

Technická univerzita v Liberci

FAKULTA PŘÍRODOVĚDNĚ-HUMANITNÍ A PEDAGOGICKÁ

Katedra: Chemie
Studijní program: Specializace v pedagogice
Studijní obor
(kombinace): Chemie se zaměřením na vzdělávání
(CH-AJ)

Opiové alkaloidy v máku setém Opium alkaloids in Papaver somniferum

Bakalářská práce: 10-FP-KCh- 01

Autor:

Adéla Stránská

Podpis:

Adresa:

Na Jihu 537
506 01, Jičín

Vedoucí práce: Mgr. Irena Horská, Ph.D.

Konzultant: Ing. Jana Müllerová, Ph.D.

Počet

stran	grafů	obrázků	tabulek	pramenů	příloh
83	0	18	15	31	0

V Liberci dne: 21. 4. 2010

**TECHNICKÁ UNIVERZITA V
LIBERCI**
FAKULTA PŘÍRODOVĚDNĚ-HUMANITNÍ A PEDAGOGICKÁ

Katedra chemie

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(pro bakalářský studijní program)

pro (kandidát): Adéla Stránská

adresa: Na Jihu 537, Jičín 506 01

studijní obor Chemie se zaměřením na vzdělávání (CH-AJ)

(kombinace):

Název BP: **Opiové alkaloidy v máku setém**

Název BP v angličtině: **Opium alkaloids in papaver somniferum**

Vedoucí práce: Mgr. Irena Šlamborová, PhD.

Konzultant: Ing. Jana Müllerová, PhD.

Termín odevzdání:

Poznámka: Podmínky pro zadání práce jsou k nahlédnutí na katedrách. Katedry rovněž formulují podrobnosti zadání. Zásady pro zpracování BP jsou k dispozici ve dvou verzích (stručné, resp. metodické pokyny) na katedrách a na Děkanátě Fakulty přírodovědně-humanitní a pedagogické TU v Liberci.

V Liberci dne 14. 12. 2009

děkan

vedoucí katedry

Převzal(kandidát): Adéla Stránská

Datum: _____

Podpis: _____

Název BP:	OPIOVÉ ALKALOIDY V MÁKU SETÉM
Vedoucí práce:	Mgr. Irena Šlamborová, PhD.
Cíl:	Analyzovat jednotlivé opiové alkaloidy v máku setém v závislosti na způsobu získání opia a s ohledem na lokalitu pěstování máku setého. Tyto alkaloidy pomocí chromatografie a IČ spektrofotometrie identifikovat.
Požadavky:	Provedení literární rešerše. Sběr a extrakce opia z máku setého z různých, vybraných lokalit v ČR.
Metody:	Rešerše, překlad, aplikace, hodnocení. Popsat účinky jednotlivých opiových alkaloidů na lidský organismus- metabolismus alkaloidů. Chromatografie papírová a na tenké vrstvě. IČ spektrofotometrická analýza.
Literatura:	J.Gasparič, J.Chudáček: Papírová a tenkovrstvá chromatografie, SNTL, Praha 1981 F.Šita: Chromatografická analýza(sbírka předpisů pro aplikaci desek silufol), Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 1989 Ferenčík, M.,Škárka, B.:Biochémiá, 1.vyd. Bratislava: Slovak Academic Press s.r.o.,2000. ISBN 80-88908-58-2 Vodrážka, Z.:Biochemie. 1.vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0438-6. Voett, D.,Voett, J.G.:Biochemistry. New York, Chichester:John Wiley and Sons. 1990. ISBN 0-471-61769-5. Lüllmann, H.,Mohr, K., Wehling, M.: Farmakologie a toxikologie. Grada Publishing spol. s.r.o. Praha, 2002. ISBN 80-7169-976-4.

Prohlášení

Byl(a) jsem seznámen(a) s tím, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci (TUL) nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu TUL.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti TUL; v tomto případě má TUL právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Bakalářskou práci jsem vypracoval(a) samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím bakalářské práce a konzultantem.

V Liberci dne: 21. 4. 2010.

Adéla Stránská

vlastnoruční podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kteří se podíleli na realizaci této práce. Především Mgr. Ireně Šlamborové, Ph.D. za odborné vedení a cenné rady a Ing. Janu Grégrovi a Ing. Janě Müllerové, Ph.D. za poskytnuté konzultace.

Dále bych chtěla vyjádřit poděkování svým rodičům, kteří mi byli velmi nápomocní při hledání polí máku setého i jeho sběru.

Opiové alkaloidy v máku setém

Resumé

Bakalářská práce se zabývá opiovými alkaloidy v máku setém. Popisuje jejich chemickou strukturu, účinky a využití. Cílem práce je pomocí chromatografie na tenké vrstvě a infračervené spektrofotometrie analyzovat jednotlivé opiové alkaloidy v máku setém v závislosti na způsobu získání opia a s ohledem na místo sběru.

Opium alkaloids in Papaver somniferum

Summary

The bachelor thesis deals with opium alkaloids in Papaver somniferum. It describes their chemical structure, effects and use. The aim is to analyze opium alkaloids using by thin-layer chromatography and infrared spectrophotometry considering the way opium was obtained and the place of collection.

Opiumalkaloide in Mohnblume

Zusammenfassung

Die Bachelorarbeit beschäftigt sich mit den Opiumalkaloide in der Mohnblume. Sie beschreibt ihre chemische Struktur, die Wirkungen und die Ausnutzung. Das Ziel der Arbeit ist mittels der Dünnschichtchromatographie und Infrarotspektrophotometrie einzelne Alkaloide in der Abhängigkeit auf dem Sammlungsort und nach der Artgewinnung zu analysieren.

Obsah

I.	ÚVOD.....	9
II.	TEORETICKÁ ČÁST	10
1	HISTORIE OPIÁTŮ	10
1.1	STAROVĚK A STŘEDOVĚK	10
1.2	NOVOVĚK	10
1.3	VÝZNAMNÉ OBJEVY	13
1.4	OPIUM VE SPOLEČNOSTI.....	14
2	ALKALOIDY OPIA	15
2.1	MÁK SETÝ	15
2.2	OPIUM.....	18
2.3	ALKALOIDY OPIA	18
2.3.1	<i>Alkaloidy fenanthrenisochinolinové.....</i>	<i>19</i>
2.3.2	<i>Alkaloidy benzylochinolinové.....</i>	<i>24</i>
2.3.3	<i>Protopinové alkaloidy.....</i>	<i>26</i>
2.3.4	<i>Alkaloidy ftalidisochinolinové</i>	<i>27</i>
3	OPIOIDNÍ ANALGETIKA	30
3.1	OPIOIDY	30
3.2	ANODYNA	30
3.2.1	<i>Opioidní receptory.....</i>	<i>31</i>
3.2.2	<i>Distribuce receptorů</i>	<i>34</i>
3.2.3	<i>Typy opioidních receptorů</i>	<i>35</i>
3.3	ROZDĚLENÍ OPIOIDNÍCH ANALGETIK.....	37
3.4	ÚČINKY MORFINU A DALŠÍCH ČISTÝCH AGONISTŮ	38
3.5.1	<i>Účinky na CNS.....</i>	<i>38</i>
3.4.1	<i>Periferní účinky.....</i>	<i>39</i>
3.4.2	<i>Další zástupci.....</i>	<i>40</i>
3.5	ÚČINKY PARCIÁLNÍ AGONISTŮ A SMÍŠENÝCH AGONISTŮ-ANTAGONISTŮ	40
3.6.1	<i>Zástupci.....</i>	<i>41</i>
3.6	ATYPICKÉ OPIOIDY	41
3.7.1	<i>Zástupci.....</i>	<i>42</i>
3.7	ANTAGONISTÉ OPIOIDNÍCH ANALGETIK	42
3.8.1	<i>Zástupci.....</i>	<i>43</i>
3.8	NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY OPIOIDNÍCH ANALGETIK	43
3.9	POZDNÍ ÚČINKY	44
3.10	NOVĚJŠÍ LÉKOVÉ FORMY	45
4	CHROMATOGRRAFIE.....	46
4.1	PRINCIP CHROMATOGRRAFIE	46
4.2	CHROMATOGRRAFIE NA TENKÉ VRSTVĚ.....	47
4.2.1	<i>Materiály pro tenké vrstvy</i>	<i>47</i>
4.2.2	<i>Příprava a nanášení vzorku</i>	<i>48</i>
4.2.3	<i>Vyvíjení chromatogramu.....</i>	<i>48</i>
4.2.4	<i>Volba vrstvy a mobilní fáze.....</i>	<i>49</i>
4.2.5	<i>Detekce</i>	<i>49</i>
4.2.6	<i>Hodnoty R_F a tvar skvrn</i>	<i>50</i>
4.2.7	<i>Dokumentace tenkých vrstev.....</i>	<i>51</i>
5	INFRAČERVENÁ SPEKTROFOTOMETRIE	52
5.1	INFRAČERVENÝ SPEKTROMETR	53
5.2	ZÁVISLOST NA EXPERIMENTÁLNÍCH PODMÍNKÁCH	53
5.3	INFORMACE VYPLÝVAJÍCÍ Z IČ SPEKTRA O STRUKTUŘE LÁTKY	54

III.	PRAKTICKÁ ČÁST	55
6	MATERIÁL PRO ANALÝZU	55
6.1	TYPY PŮD NA MÍSTECH SBĚRU	55
6.2	ZÍSKÁNÍ OPIA	56
6.2.1	<i>První skupina vzorků</i>	<i>57</i>
6.2.2	<i>Druhá skupina vzorků.....</i>	<i>65</i>
6.2.3	<i>Třetí vzorek</i>	<i>70</i>
7	INFRAČERVENÁ SPEKTROFOTOMETRIE ALKALOIDŮ OPIA.....	72
IV.	ZÁVĚR.....	76
V.	SEZNAM POJMŮ A ZKRATEK.....	79
VI.	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY A ZDROJŮ	81

I. Úvod

Opium je látka známá svými narkotickými účinky již po tisíciletí. Už od starověku je opium považováno za první drogu, která byla nejvíce spjata s obchodem. V současné době je opium spojeno s obchodem zejména v Afghánistánu, který již po dlouhá léta drží prvenství v produkci opia a kde snahy o snížení výroby neustále selhávají. Prodej opiového máku jako suroviny pro výrobu heroinu a morfinu je pro Afghánistán významným příjmem financí, především pro teroristické organizace a povstalecké aktivity Talibanu. Bohužel řešení otázky týkající se vývozu opia a nelegální výroby heroinu má před sebou ještě dlouhou cestu.

Nicméně, i když je na jedné straně opium hrozbou a předmětem věčných sporů, má i své pozitivní využití v lékařství, což bylo jedním z hlavních důvodů, proč jsem si téma opiových alkaloidů zvolila.

První kapitulu práce jsem věnovala historii opiátů. Popsala jsem opium jako látku, která je pro své účinky využívána i zneužívaná od starověku po současnost. Dále jsem v kapitole zmínila dva klíčové momenty, které významně ovlivnily celou drogovou scénu.

Ve druhé kapitole jsem popsala složení samotného opia a jeho nejdůležitější alkaloidy z hlediska jejich chemické struktury, účinků a použití.

Třetí kapitolu jsem zasvětila již zmiňovanému využití opia v lékařství, a to problematice opiodních analgetik.

Cílem práce bylo analyzovat jednotlivé opiové alkaloidy v máku setém v závislosti na způsobu získání opia a s ohledem na lokalitu sběru. Alkaloidy jsem analyzovala pomocí chromatografie na tenké vrstvě a infračervené spektrofotometrie. Principy metod jsou popsány ve čtvrté kapitole.

II. Teoretická část

1 Historie opiátů

1.1 Starověk a středověk

Mák setý je stará kulturní rostlina, která je známá jako zdroj účinných látek od pradávna. Zřejmě se pěstovala v západní oblasti Středozemního moře již před osmi tisíci lety. Existují písemné odkazy na mák jako na "rostlinu radosti" již z doby okolo roku 3100 před naším letopočtem, kdy jižní Irák obývali Sumerové. Tradice běžného lékařského i nelékařského užívání opia je dále známa u Egyptanů, Řeků, Peršanů a Římanů. Tehdy si každá civilizace vytvářela svůj vlastní mýtus spojený s opiem. Například ve starém Řecku byla bohyně Deméter, která zapoměla na svou bolest až po odhalení tajemství makovice. Také Helena Trojská, jak je zmíněno v krátké epizodě Odyssey, zřejmě použila opojný nápoj s účinky nápadně podobnými opiu, aby zahнала lidský smutek a obavy. Významný římský císař Marcus Aurelius užíval denně medový opiový sirup, který mu předepisoval jeho lékař na klidný spánek. V Egyptě se opium užívalo k úlevě od bolesti při nehojících se ranách a vředech. Opium bylo od počátku nejvíce spjato s obchodem a obchodními stezkami. Do Indie, Číny, severní Afriky a Španělska se na počátku sedmého století opium dostalo díky arabským obchodníkům. Dalšími rozšiřovateli opia byli vojáci. Evropa poznala opium prostřednictvím vojáků vracejících se z křížových výprav na rozhraní tisíciletí.

1.2 Novověk

Na počátku šestnáctého století vytvořil německý lékař Paracelsus recept složený z opia a koření, který údajně nazval slovem laudánium. S objevem nového literárního žánru – cestopisu – se lidé v Evropě začali zajímat také o jiné použití opia než k lékařským účelům. Například francouzský přírodovědec Pierre Belon se zmiňuje o osmanských válkách, kde popisuje Turky jako bojovníky, kteří nakupují velké dávky opia, jelikož se domnívají, že požívání opia jim propůjčí smělost a zbaví

je strachu. Další zmínky o Turcích jako o neuvěřitelných požívačích opia pocházejí od anglických obchodníků a cestovatelů. V druhé polovině 17. století připravil anglický lékař Thomas Sydenham alkoholovou opiovou tinkturu, která je známá až do dnešních dnů jako laudánium. Tinkturu není možné zaměnit s Paracelsovým lékem tuhé konzistence. Sydenhamovo laudánium začali lékaři předepisovat stále častěji a mnozí pacienti se stávali závislími. Thomas Willis, současník Sydenhama, jako první upozornil na závažné nebezpečí z nadměrného užívání opiové tinktury, a to hlavně nutnost s postupem času zvyšovat dávku. Velšský lékař John Jones ve svém pojednání „Záhady opia rozřešeny“ propagoval užívání drog, zmiňoval se zde také o nežádoucích účincích opia a realisticky popsal abstinenci příznaky. Přestože nebezpečí závislosti bylo známo už v dřívějších dobách, jako první, kdo opium začali zneužívat, jsou považováni Číňané. Počátkem 18. století se v Číně rozšířilo kouření opia. Roku 1729 vydala Čína první protiopiový výnos, na jehož základě měli být všichni, kdo prodávají nebo přechovávají opium, usmrceni. Roku 1753 vyhlásili Číňané na opium dovozní clo, což představovalo problém pro Anglii. Nakonec přišlo pro Británii v roce 1763 řešení, kdy došlo k obsazení Bengálska, čímž získala Británie monopol na indické opium. Po roce 1782 pokračovala Východoindická společnost s vyvážením velkého množství opia do Číny dál. V Číně, kde bylo nelékařské užívání opia do té doby spíše výjimkou, vznikla velká poptávka po opiu na kouření zejména mezi bohatšími lidmi. Čínský císař proto vydal prohlášení zakazující import a užívání opia i pěstování máku. V důsledku toho byla část britského loďstva vyslána do Číny a roku 1839 začala tzv. první opiová válka, která skončila v roce 1843 úplným vítězstvím Anglie a zabráním Hong Kongu jako kolonie. Do Číny byl znovu zaveden dovoz opia, který zvláště po 2. opiové válce (1856 - 1860) mnohonásobně stoupl. Kouření opia se z Číny rozšířilo do celého světa. Na přelomu století bylo v Číně přes 20 milionů kuřáků opia, ve světě více než 100 milionů. V roce 1906 vydala čínská vláda dekret, na jehož základě mohly být zabaveny pozemky s mákem, všichni kuřáci opia museli být sepsáni, nesměly být otevírány nové opiové obchody a kuřárny opia byly uzavřeny. Zároveň uzavřela Čína smlouvu s indickou vládou, podle které se měl od roku 1908 každoročně snížit dovoz opia o 10 %. Toto opatření se v mnoha případech nebylo dodržováno, spíše způsobilo nárůst množství pašovaného opia a morfinu. Hnutí proti opiu v Anglii

a USA vedlo k tomu, že se roku 1909 v Šanghaji sešel první mezinárodní Opiový výbor, který doporučil i ostatním vládám, aby následovaly Čínu v boji proti opiu. Jednalo se především o státy, které dovážely opium do Anglie. 23. 1. 1912 podepsalo 12 států v Haagu Mezinárodní opiovou úmluvu, které se zavázali, že opium bude užíváno pouze k lékařským účelům. Následně bylo opium, s výjimkou medicínského použití, mezinárodně kontrolováno a drogovými zákony v mnoha zemích zakázáno. V Severní Americe byl schválen Harrisonův opiový zákon roku 1914, ve Francii 1916, v Holandsku a Belgii 1919 a roku 1920 v Anglii. Československo ho schválilo podpisem versailleské mírové smlouvy v roce 1920, ale prováděcí zákon vyšel až o tři roky později. Během 1. světové války nastal zejména v Evropě další opiátový rozmach. Známé obchodní domy prodávaly balíčky s morfinem spolu s injekční stříkačkou a jehlami pod názvem "Užitečný dárek příteli na frontě". Armáda sice zakázala dodávání drog vojákům, to ale jen podpořilo černý trh. Ve Spojených státech vzniklo po válce mnoho klinik pro léčení závislostí, později však byly uzavřeny a lékaři, kteří v nich pracovali, byli stíháni. V roce 1925 proběhla v Ženevě 2. mezinárodní opiová konference, které se zúčastnilo 34 států. Rozšířila ustanovení z 1. konference tím, že vydala doplňující ustanovení pro ilegální výrobu a distribuce narkotik. Každý smluvní stát se zavázal, že bude stíhat přiměřenými tresty porušení zákonů a nařízení, které se vztahují na provádění ustanovení této úmluvy a že zavede příslušná zákonodárná opatření. Heroin byl také zakázán i v rámci medicínského použití a skončila jeho legální výroba. Zhruba půl miliónu závislých tak bylo odříznuto od jakékoli pomoci a dodávek drog, což využili překupníci tehdy zakázaného alkoholu a začali závislé zásobovat heroinem a morfinem, vyrobeným z levného opia v ilegálních laboratořích. Po 2. mezinárodní opiové konferenci se mezinárodní regulace narkotik zvyšovala prakticky každý rok a stále byl rozšiřován seznam zakázaných látek. V roce 1938 vstoupil v platnost tzv. opiový zákon, který ustanovil, že se úřednímu dozoru bude podrobovat výroba, zpracování, příprava, rozdělování, obchod, dovoz, tranzit a vývoz omamných látek. Další významnější úmluvou je Jednotná úmluva o omamných látkách z New Yorku 1961, jejímž cílem bylo sjednotit všechny dříve podepsané mezinárodní úmluvy z této oblasti, protože systém kontroly se stával komplikovaným a nepřehledným.

Od 1. ledna 1999 je v České republice v platnosti zákon č. 167/1998 Sb. O návykových látkách, který byl s účinností od 1. června 2009 novelizován zákonem č. 141/2009 Sb.

1.3 Významné objevy

V devatenáctém století došlo ke dvěma událostem, které významně ovlivnily drogovou scénu. První je objevení alkaloidu morfinu. Aktivní složku opia izoloval Armand Seguin. Francouzský lékárník Jean Francois Derosne prodával léčivou sůl, která obsahovala alkaloidy později známé jako morfin a narkotin. O něco později začal Friedrich Wilhelm Sertüner zkoumat přesné složení surového opia za pomoci Derosenovy soli. Roku 1804 izoloval bílou krystalickou látku, kterou nazval podle řeckého boha snů Morfea, morfium. Pařížský lékárník a chemik Pierre-Jean Robiquet o pár let později objevil kodein a narkotin a další opiové alkaloidy. Zdokonalil také extrakci morfinu, který se pak prodával jako lék na bolest i jako lék pro závislé osoby. V roce 1874 anglický chemik C. R. Alder považil morfin acetanhydridem a získal bílou krystalickou látku známou jako diacetylmorfin. Již první laboratorní zkoušky prokázaly, že jako analgetikum je diacetylmorfin osmkrát silnější než morfin. Německý farmakolog Heinrich Dreser, vrchní představitel firmy Bayer, ho vyzkoušel na šedesáti pacientech a zjistil, že účinně léčí kašel, rýmu, bronchitidu, tuberkulózu a astma. Následně uvedl diacetylmorfin na trh pod obchodním názvem heroin (odvozený od slova heroisch, což znamená silný). Po léta byl pak heroin považován za účinný lék pro závislost na morfinu. Druhá významná událost, ke které došlo v 19. století, bylo vyvinutí intravenózní aplikace léků. V roce 1853 francouzský lékař Charles Pravaz vynalezl injekční stříkačku, ke které přidal injekční jehlu, kterou vyrobil v roce 1844 irský lékař Francis Rynd. Ještě před tímto vynálezem byly používané různé polotovary injekčních stříkaček a jehel. Například, již zmiňovaný Francis Rynd, léčil neuralgickou pacientku injekcemi s morfinovým roztokem, které vznikly nasazením duté jehly na kojeneckou láhev. Edinburghský lékař Alexander Wood používal injekce zkonstruované podle vzoru včelího žihadla, které vpravoval do paže za účelem navodit lokální anestézií. Bohužel také ale vyvinul teorii, že polykání morfia ústy na něj vytváří chuť podobné chuti na jídlo

i pití, a tak se domníval, že když bude pacientům morfiu píchat, nebudou po droze hladovět. Ve své teorii se hluboce mýlil, většina jeho pacientů se stala rychle závislou. Až v šedesátých letech devatenáctého století si německý profesor patologie všiml, že injekční podávání morfia u neuralgických pacientů vyvolává závislost tím, že se dávky podávané pacientovi stále zvyšují.

1.4 Opium ve společnosti

Opium užívalo i mnoho slavných osobností, například spisovatelé Charles Dickens, Walter Scott, básníci Byron, Shelley a Coleridge. Mnohem více lidí včetně politiků a jiných profesionálů bralo laudánum. Vysvětlením je, že v té době bylo opium natolik levné, že bylo dostupné prakticky v jakémkoli množství i těm nejchudším vrstvám. V některých oblastech se dokonce prodávalo pivo téměř výhradně s přídavkem opia, nebo opiový čaj, který byl k dostání v některých lékárnách až do 50. let 20. století. Perorální užívání opia bylo nejrozšířenější. Na kouření bylo pohlíženo jako na společensky nepřijatelné. *„Velmi oblíbené byly opiové léky pro uklidnění dětí. Mortalita, která rozsáhlé užívání takových léků provází, se stala tématem až v polovině devatenáctého století. V největším nebezpečí byly děti pracujících žen z nové třídy průmyslového dělnictva. Matky dávaly opium dětem na dobu, kdy byly v práci a často docházelo k předávkování a smrti. I v měřítku celé populace bylo předávkování opiem příčinou 1/3 všech úmrtí otravou.“*¹

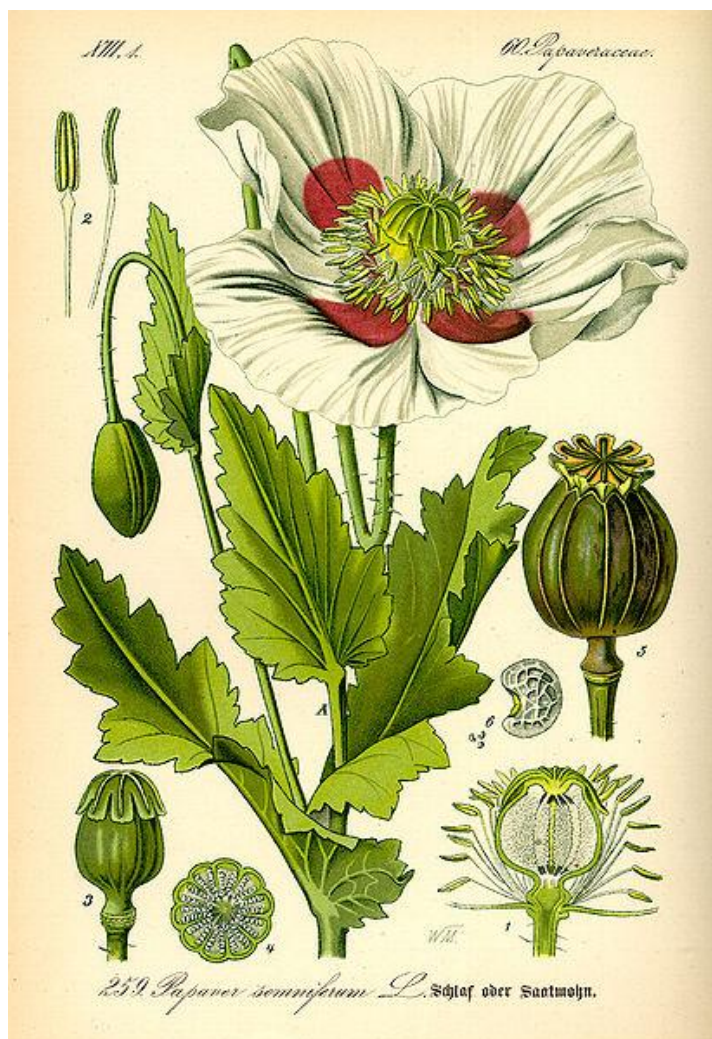
¹ Občanské sdružení SANANIM. *Drogová poradna* [online]. c2002-2009 [cit. 2009-12-13]. Dostupný z WWW: <<http://www.drogovapordna.cz/rubrika.php?rubrika=21>>.

2 Alkaloidy opia

2.1 Mák setý

Zdrojem opia je mák setý (lat. *Papaver somniferum*). „Mák setý je jednoletá bylina s krátce zdužnatělým křulovitým kořenem pronikajícím do hloubky 0,5-0,8 m a velkým množstvím jemných postranních kořínků. Zpravidla jen jedna lodyha je 0,3-1,8 m vysoká, na příčném řezu oblá, vyplněná dřevní a na povrchu voskovitě ojíněná. Listy jsou v obrysu podlouhlé, dolní celistvé, střední a horní nepravidelně zubaté, poloobjímavé, zvlněné. Květ má dva opadavé kališní lístky, které jsou zpravidla lysé. Čtyři korunní lístky jsou rozdílné velikostí a tvaru a u většiny odrůd se světlou nebo tmavou skvrnou na bázi, která zaujímá 1/4 až 1/3 celkové plochy lístku. Některé máky mají korunu celou bílou, květy se světlou skvrnou bývají růžové, červené i fialové a květy s tmavou skvrnou červené až tmavě fialové. Květ je oboupohlavní a většinou samosprašný. Obsahuje 160-210 tyčinek, které jsou při kvetení přihnuty k semeníku. Svrchní semeník vyrůstá na prodloužené květní stopce a chybí mu čnělky. Blizna vytváří hvězdovitý terč se 4-21 paprsky. Plodem je tobolka kuželovitého, kulovitého nebo mírně zploštělého tvaru a různé velikosti. V době zralosti se otevírá buď malými otvory mezi paprsky blizny (mák hledák), nebo zůstává zavřená (mák slepák). Na neúplných přehrádkách je množství drobných semen, která jsou ledvinovitá, bílá, stříbrošedá, šedomodrá, temně modrá i jinak zbarvená. Hmotnost 1000 semen se pohybuje mezi 0,25-0,75 g. Obsahují v sušině 42-58 % oleje, 18-20 % bílkovin, 16-24 % sacharidů, 5-8 % vlákniny a asi 6 % minerálních látek, ve kterých převažuje vápník a fosfor.“² Mák se pěstuje jednak za účelem potravinářským (semena, olej), jednak za účelem farmaceutickým (izolace alkaloidů). Podle užitkových vlastností se mák setý rozlišuje na dva typy - mák olejný a mák opiový. V České republice se mák pěstuje pro zrno a olej, část máku, resp. makoviny – makové slámy, se užívá k farmaceutickým účelům.

² HONEJ, Pablo. *Biotox.cz* [online]. 2000-2009 [cit. 2010-02-03]. Encyklopedie psychotropních rostlin. Dostupné z WWW: <<http://www.biotox.cz/enpsyro/pj3rpas.html>>.



„Obr. 1“³ Mák setý

Existuje několik odrůd máku setého, takzvaných kultivarů. Nejvýznamnější jsou modrosemenné odrůdy, méně časté bělosemenné. Kultury máku výhradně pro produkci opia se pěstují spíše v jižních zemích. Jedná se většinou o bělosemenné kultivary.

³ Mák setý In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, , 28.3.2010 [cit. 2010-04-16]. Dostupné z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/M%C3%A1k_set%C3%BD>.

Odrůdy máku setého v ČR

„Modrosemenné odrůdy

GERLACH - středně raná odrůda, polovysokého vzrůstu, s vysokým výnosem semen, se středním obsahem morfinu v makovině. Hodí se do všech pěstitelských oblastí.

OPAL - středně raná odrůda, s pravidelným vysokým výnosem a se stabilní modrou barvou semene. Obsah morfinu v makovině je střední až vyšší, odrůda je pěstitelsky plastická. Nemá výrazná pěstitelská rizika.

LAZUR - odrůda určená převážně k produkci makoviny pro farmaceutický průmysl, s vysokým obsahem morfinu. Pěstitelsky vhodná do všech oblastí.

PRZEMKO - nízkomorfinová odrůda s nižším výnosem semen. V praxi je málo rozšířena. Předností je minimální zneužití pro výrobu narkotik.

Bělosemenná odrůda

ALBÍN - pěstuje se v omezeném rozsahu, výnos je nižší. Větší citlivost na poškození herbicidy. Předností je chuť semen (oříšková příchut').⁴

⁴ Agroweb.cz [online]. 2001 [cit. 2010-02-03]. Odrůdy máku a jejich výsledky. Dostupné z WWW: <http://www.agroweb.cz/Odrudy-maku-a-jejich-vysledky__s44x10553.html>.

2.2 Opium

Opium se získává mělkým podélným nařezáváním nezralých zelených tobolek makovic ve stadiu tzv. opiové zralosti, tj. asi 8. až 10. den po opadání korunních lístků, kdy je poměr množství šťávy a obsahu alkaloidů nejvýhodnější. Během dozrávání mění opium svou barvu a konzistenci. Z řezů vytéká bílá mléčná šťáva, která na světle rychle zasychá, houstne a hnědne. Po zaschnutí, tj. zhruba jeden den, se mléčný latex seškrabává. Sebraná lepkavá hmota se dosušuje na stinných místech, následně se uhněte do koulí, zabalí do makových listů a posype sušenými šťovíkovými plody. Jednotlivé kusy opia mají obvykle kulatý nebo oválný tvar o hmotnosti 1 - 1,5 kg. Tento surový materiál se dále zpracovává v továrnách, kde se mele, homogenizuje a upravuje na určitý obsah morfinu. Z jedné makovice je možné získat přibližně 0,02 g surového opia. Opium má trpce hořkou chuť a omamnou vůni. Přibližně 75 % opia tvoří kaučuk, sliz, pektiny, živice, vosky a 15 až 25 % opia tvoří alkaloidy.



„Obr. 2“⁵

2.3 Alkaloidy opia

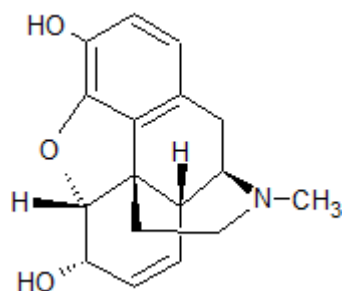
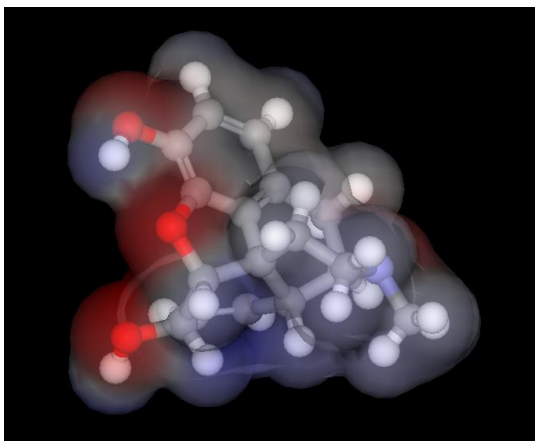
Alkaloidy jsou přírodní dusíkaté látky zásaditého charakteru, v rostlinách se nejčastěji vyskytují jako soli organických kyselin, méně často jsou volné. Opium obsahuje více než 40 různých alkaloidů, které jsou v něm přítomny ve formě solí kyseliny chelidonové (mekonové), mléčné, sírové, fumarové a jiných. Opiové alkaloidy jsou odvozeny od aminokyselin fenylalaninu a thyrosinu. Hlavní alkaloidy je možné podle chemické struktury rozdělit do několika základních skupin.

⁵ *Purchase Poppy Seeds for Sale* [online]. 2010 [cit. 2010-03-05]. Learn the Steps of Poppy Growing. Dostupné z WWW: <http://www.purchasepoppyseedssale.com/poppy_growing>.

2.3.1 Alkaloidy fenanthrenisochinolinové

Morfin

Hlavním zástupcem této skupiny je morfin, který je nejvýznamnějším a zároveň nejúčinnějším alkaloidem opia, ve kterém je přítomen zhruba v 2,7 - 21 %. Název získal podle boha snů Morfea, jemuž byl ve starověkém Řecku zasvěcen mák.



Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	(5 α ,6 α)-7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorfinan-3,6-diol
Sumární vzorec	C ₁₇ H ₁₉ NO ₃
Molární hmotnost	285,4 g/mol.
Bod tání	254 °C
LD ₅₀	0,005 g/kg (člověk p.o.)
Rozpustnost ve vodě	1: 25
Vzhled	bezbarvé krystalky

Morfin je bílý až nažloutlý prášek, který je tvořen polygonálními a jehličkovitými krystaly. K medicínskému využití je tvořen solemi morfinia, nejobvyklejší je hemisulfát nebo hydrochlorid. Nemá žádný specifický zápach, jeho chuť je lehce nahořklá. Morfin je velmi málo rozpustný v tucích, zato dobře rozpustný ve vodě v poměru 1:25 a methanolu 1:20, méně v ethanolu 1:50, v ostatních organických rozpouštědlech je prakticky nerozpustný. Soli morfinu, morfináty alkalických kovů a kovů alkalických zemin, jsou velice dobře rozpustné ve vodě a tvoří alkalické roztoky, jejichž pH se pohybuje přibližně kolem 11.

Přírodní analgeticky účinný morfin je levotočivý a má pět asymetrických center. Morfinanová kostra je tvořena pěti kondenzovanými cykly. Terciární aminový dusík v poloze 17 - morfinanového skeletu má jeden volný nevazebný elektronový pár, což umožňuje, že molekula je schopná protonizace, tvorby kationtu reakcí s roztokem kyseliny, kterou vzniká kation zvaný morfinium. Kromě bazického centra je v molekule morfinu přítomné i centrum acidické v podobě protondonorního fenolického hydroxyly v poloze 3. V důsledku toho je možné morfin silnou zásadou deprotonizovat. V silně zásaditých roztocích tvoří rozpustný anion morfinát (morfinan), proto je molekula morfinu amfifilní, tj. tvořící soli s kyselinami i zásadami. Této vlastnosti morfinu se využívá především při jeho izolaci z přírodních zdrojů – opia a makoviny.

Farmakokinetika

Biologický poločas vylučování, tedy doba snížení koncentrace v krevní plazmě na polovinu, je 2 - 4 hodiny. Přibližně třetina plazmatického morfinu je vázána na bílkoviny. Disociační konstanta morfinu je nízká, což vede k tomu, že při plazmatickém pH 7,4 je asi 80 % morfinu v ionizovaném stavu a tedy neschopno průniku membránami a hematoencefalickou bariérou. Po perorální aplikaci přejde do krevního řečiště v nezměněné formě pouze 15 - 25 % podaného množství, což je následek rychlého vstřebávání v játrech a ve střevech tzv. „first-pass efektu“. V játrech se morfin konjuguje s kyselinou glukuronovou nebo sírovou, do 5 % podléhá demethylaci na dusíku. Reakcí s kyselinou glukuronovou vznikají dva hlavními metabolity morfin-3-glukuronid (M3G), který nemá analgetický účinek, a morfin-6-glukuronid (M6G), jehož analgetický účinek je mnohem silnější než morfinu. Metabolickou zvláštností je, že i přestože je M6G rozpustnější ve vodě, což umožňuje rychlejší vyloučení z organismu, bez problémů přestupuje přes hematoencefalickou bariéru do mozku. Dá se to vysvětlit tím, že při určité konformaci molekuly jsou hydrofilní skupiny zakryty. To zřejmě umožňuje průnik bariérou, kterou mohou snadno projít jen lipofilní látky. Poměr metabolitů je u člověka 5:1 ve prospěch 3-glukuronidu. U novorozenců je schopnost konjugace

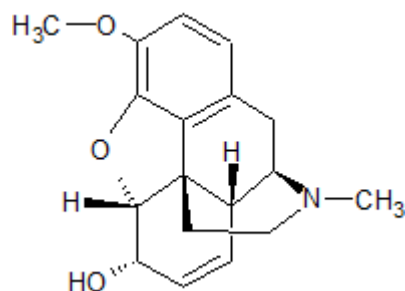
s glukuronou kyselinou omezena, proto se u nich morfin vylučuje z organismu pomaleji než u dospělých. M3G se vylučuje žlučí do střev, kde dochází k jeho částečné hydrolyze. Uvolněný morfin se pak znovu vstřebává. Malá část morfinu je metabolizována na normorfin (17 - demethylmorfin) a jeho glukuronidy. Morfin i jeho metabolity se vylučují ledvinami. Většina morfinu se vylučuje z těla nezměněna močí – 90 % morfia se vyloučí během 24 hodin. Morfin dobře proniká placentární bariérou, může tedy ohrozit nenarozený plod.

Účinky a použití

Viz. 3.4

Kodein

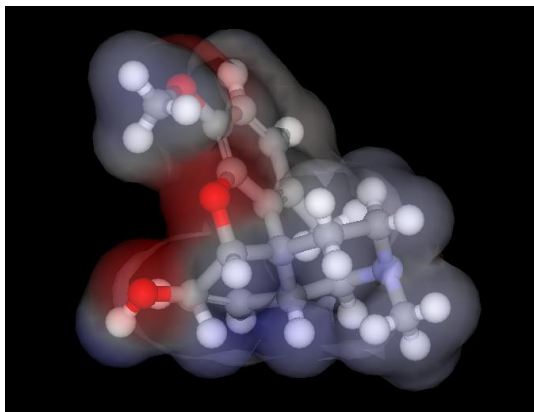
Kodein neboli methylmorfin byl poprvé izolován v roce 1832 Pierrem Jeanem Robiquetem jako nečistota vyskytující se ve vārce morfinu. V surovém opiu se tento alkaloid nachází v koncentracích od 0,3 do 4 %. Většinou se získává z morfinu i přesto, že se samostatně vyskytuje v přírodním stavu.



Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	(5α,6α)-7,8-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6-ol
Sumární vzorec	C ₁₈ H ₂₁ NO ₃
Molární hmotnost	299,364 g/mol
Bod tání	154 - 156°C
LD ₅₀ :	0,5 g/kg (člověk p.o.)
Rozpustnost ve vodě	velmi dobře
Vzhled	bílé mikrokrystaly

Kodein je mikrokrytalický bílý prášek bez zápachu, který na vzduchu ztrácí krystalovou vodu a na světle se časem barví žlutě. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, zato velmi špatně v 95 % etanolu. V ostatních organických rozpouštědlech, například v chloroformu, je prakticky nerozpustný.



Farmakokinetika

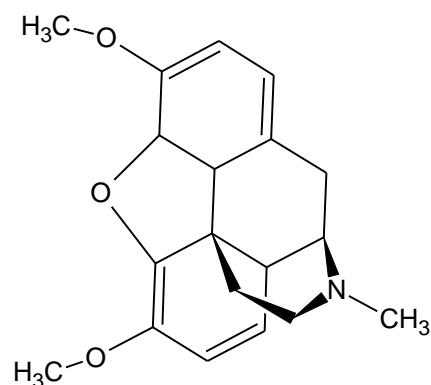
Kodein je považován za prekurzor drogy, což znamená, že je sám o sobě neaktivní. V játrech je demethylován na aktivní morfin. Tato přeměna je katalyzována jaterním enzymem CYP2D6 a cytochromem P450. Kvůli velké proměnlivosti CYP2D6 v populaci může být účinek kodeinu u jednotlivců proměnlivý. U osob se špatnou nebo žádnou funkcí CYP2D6, má kodein malý nebo dokonce žádný efekt. Hlavními metabolity jsou morfin, norkodein a také konjugáty morfinu a kodeinu. Poločas eliminace je 3 – 5 hodin, pomaleji probíhá u osob trpících nedostatečnou funkcí jater a u starších osob. Vylučování probíhá převážně ledvinami, přibližně 10 % kodeinu se vyloučí v nezměněné formě.

Účinky a použití

Kodein se používá především jako velmi účinné antitusikum. Působí analgeticky jako morfin, ale jeho účinky jsou oproti němu šestkrát slabší. Někdy je předepisován v kombinaci s analgetiky, jako je paracetamol nebo ibuprofen, za účelem poskytnout větší úlevu od bolesti díky synergickému efektu.

Thebain

Thebain neboli paramorfin byl izolován z opia roku 1835. Název je odvozen od staroegyptského města Théby, které bylo v 18. - 19. století centrem obchodu s opiem. Kromě máku setého, ve kterém je zastoupen v množství od 0,1 - 0,6 %, je thebain obsažen v *Papaver bracteatum*, který je jeho hlavním zdrojem. Objevuje pouze v mladých rostlinách, postupem času se mění na isothebain. Thebain reaguje jako tercierní jednosytná báze, obsahuje dvě methoxylové skupiny.



Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	(5 <i>R</i> ,9 <i>R</i> ,13 <i>S</i>)-3,6-Dimethoxy- <i>N</i> -methyl-4,5-epoxymorphin-6,8-dien
Sumární vzorec	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃
Molární hmotnost	311,37 g/mol
Bod tání	190 - 193° C
LD ₅₀ :	54 mg/kg (krysa p.o.)
Rozpustnost ve vodě	málo 2, 2 g/l
Vzhled	bezbarvé krystalky

Účinky a použití

Není využíván k terapeutickým účelům. Způsobuje tetanické křeče. Slouží k výrobě naloxonu, který působí jako antidotum opioidů, a buprenorfinu, který slouží jako látka při odvykání.

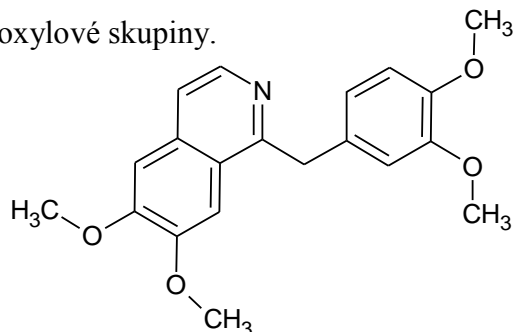
Neopin

Neopin C₁₈H₂₁N O₃ je sloučenina, která je izomerní s kodeinem. Byl izolován z matečných louhů opiových alkaloidů. Používá se jako surovina pro výrobu syntetických analgetik.

2.3.2 Alkaloidy benzyloisochinolinové

Papaverin

Papaverin je v opiu obsažen v množství do 1 %. V molekule je obsažen jeden terciární vinický dusíkový atom a čtyři methoxylové skupiny.

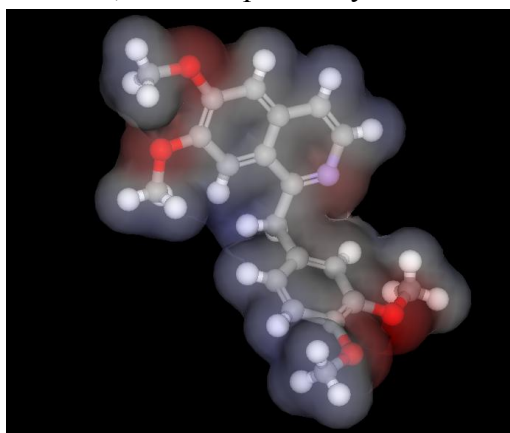


Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	1-[(3,4-dimethoxyfenyl)methyl]-6,7-dimethoxyisochinolin
Sumární vzorec	C ₂₀ H ₂₁ NO ₄
Molární hmotnost	339,39 g/mol
Bod tání	148 °C
LD ₅₀ :	0,75 g/kg (krysa p.o.)
Rozpustnost ve vodě	velmi málo (1: 40)
Vzhled	bezbarvé krystalky, hořká chuť

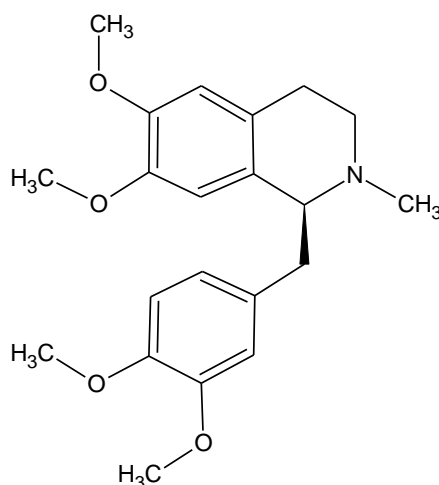
Účinky a použití

Papaverin se používá hlavně jako spasmolytikum. Působí tonus až obrnu hladkého svalstva. Prodlužuje refrakterní periodu myokardu a vede k vazodilataci. Při otravě dochází k poklesu krevního tlaku, může nastat až kolaps, k arytmiím, při těžké otravě dyspnoe, křeče a kóma, v němž postižený může zemřít na selhání krevního oběhu.



Laudanosin

Laudanosin byl izolován z opia roku 1871 a je v něm obsažen do množství pod 0,1 %. Částečnou dehydratací z něj lze vyrobit papaverin.



Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	1-[(3,4-dimethoxyphenyl)methyl]-6,7-dimethoxy-2-methyl-3,4-dihydro-1H-isochinolin
Sumární vzorec	C ₂₁ H ₂₇ NO ₄
Molární hmotnost	357.44 g/mol
Bod tání	89 °C
LD ₅₀ :	-
Rozpustnost ve vodě	nerozpustný, dobře v etheru a chloroformu
Vzhled	bezbarvé krystalky

Účinky a použití

Laudanosin prostupuje hematoencefalickou membránou. Reaguje s GABA receptory a opioidními receptory. Ve vyšších dávkách má konvulzivní účinky.

Laudanin, laudanidin a kodamin

Tyto tři alkaloidy byly rovněž izolovány z opia v množství od 0,005 - 0,003 %. Laudanidin je jedním z antipodů racemického laudaninu a kodamin je izomerem laudanidinu, takže jejich sumární vzorec je C₂₀H₂₅NO₄. Laudanidin je velmi toxická látka, která působí jako křečový jed.

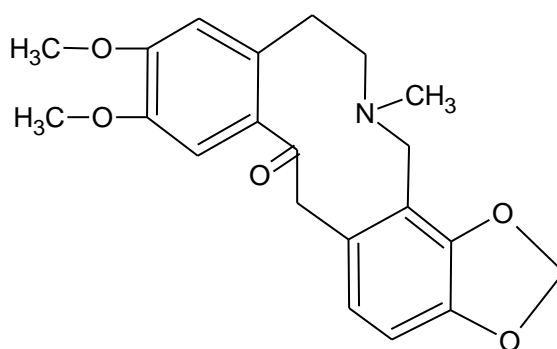
2.3.3 Protopinové alkaloidy

Protopin

Protopin $C_{20}H_{19}NO_5$ je opticky inaktivní sloučenina nalezená v mnoha rostlinách. Tvoří bezbarvé krystalky, které mají bod tání při 207 °C.

Kryptopin

Kryptopin je opticky inaktivní alkaloid, který byl rovněž nalezen v mnoha rostlinách, ale poprvé byl získán z máku setého. Je možné ho přeměnit na protopin.



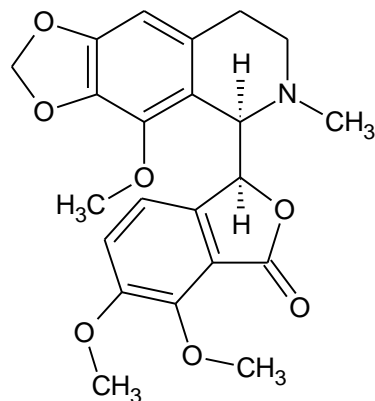
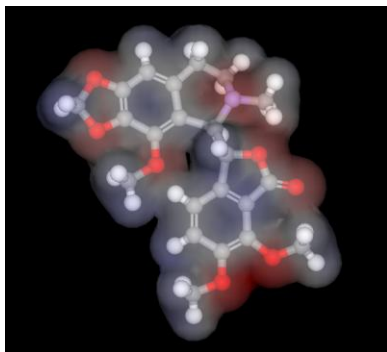
Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	4,6,7,13-Tetrahydro-9,10-dimethoxy-5-methylbenzo(e)-1,3-dioxolo(4,5-l)(2)benzazecin-12(5H)-on
Sumární vzorec	$C_{21}H_{23}NO_5$
Molární hmotnost	369.41 g/mol
Bod tání	221 °C
LD ₅₀ :	35 mg/kg
Rozpustnost ve vodě	špatně, dobře v acetonu a benzenu
Vzhled	bezbarvé krystalky

2.3.4 Alkaloidy ftalidisochinolinové

Narkotin

Narkotin je obsažen v opiu v množství 0,76 – 6,4 %. Byl izolován roku 1804 jako druhý alkaloid hned po morfinu. Narkotin tvoří polymorfní krystalky, které jsou rozpustné v benzenu a chloroformu, ve vodě jsou nerozpustné. Obsah narkotinu klesá se sušením opia. Při kouření opia narkotin sublimuje a asi z 15 % může být z kouře regenerováno.



Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	6,7-dimethoxy-3-(4-methoxy-6-methyl-7,8-dihydro-5H-[1,3]dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5-yl)-3H-isobenzofuran-1-on
Sumární vzorec	C ₂₂ H ₂₃ NO ₇
Molární hmotnost	413.42 g/mol
Bod tání	175 °C
LD ₅₀ :	750 mg/kg (krysa p.o.)
Rozpustnost ve vodě	nerozpustný
Vzhled	bezbarvé krystalky

Účinky a použití

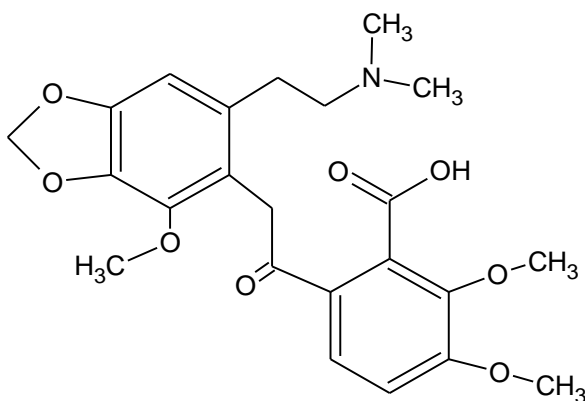
Působí podobně jako papaverin. Terapeuticky je jen vzácně používán k utlumení kašle. Má oproti morfiu podstatně slabší narkotický i analgetický účinek, u některých jeho derivátů jsou tyto účinky silnější. Zesiluje účinky morfinu a snižuje toxicitu. Používá se jedině ve směsi s některými opiovými alkaloidy. V lékařství se ho užívá řídce jako léku při nervových nemocích a při křečích.

Narkotolin

Obsah narkotolinu v opiu je zhruba 0,01 %, jeho sumární vzorec je $C_{21}H_{21}O_7N$. Byl izolován ze směsi bází rozpustných v louhu po oddělení morfinu.

Narcein

Narcein byl izolován u opia roku 1832 Josephem Pelletierem. V opiu je obsažen v množství od 0,1 – 0,2 %. Má hořkou chuť. Ve vodě je téměř nerozpustný, dobře rozpustný je v horkém alkoholu.



Fyzikální a chemické vlastnosti

Systematický název	6-[2-[6-(2-dimethylaminoethyl)-4-methoxy-1,3-benzodioxol-5-yl] acetyl]-2,3-dimethoxybenzoová kyselina
Sumární vzorec	$C_{23}H_{27}NO_8$
Molární hmotnost	445,46 g/mol
Bod tání	170 °C
LD ₅₀ :	2000 mg/kg (myš i.v.)
Rozpustnost ve vodě	obtížně (780 mg/l)
Vzhled	bílé krystaly, lehce hořká chuť

Účinky a použití

Působí podobně jako morfin. Může být podáván ve formě pilulek jako mírné hypnotikum a ke zmírnění kašle, je méně depresivní než morfin a nezpůsobuje zácpu.

Nornacein

Nornarcein $C_{22}H_{25}NO_8$ byl izolován z matečných louhů opia po krystalizaci narceinu.

3 Opioidní analgetika

3.1 Opioidy

Pojem opioidy označuje přirozené i syntetické látky, která jsou schopné vázat se na opioidní receptory nacházející se v centrálním nervovém systému a na periferiích. Tyto látky mají podobné účinku morfinu nebo jiným analgetickým účinným alkaloidům, které byly izolovány z opia. Opioidy jsou používány v lékařství jako nejsilnější léky proti bolesti (analgetika - anodyna) nebo jako léky tlumící kašlací reflex (antitusika). Termín opioidy zahrnuje čtyři skupiny látek, jimž jsou endogenní opioidy, plně syntetické opioidy, polosyntetické opioidy a opiové alkaloidy. Pro opiové alkaloidy a jejich polosyntetické deriváty je někdy užíván souhrnný název opiáty.

3.2 Anodyna

Pro skupinu silně působících analgetik - anodyn, jejichž hlavním předchůdcem a zároveň přírodním zdrojem je opium, se používá název *opiodní*, nebo také podle hlavního zástupce morfinu, morfinová *analgetika*. Působí prostřednictvím ovlivnění specifických opiodních receptorů μ , δ a κ . Anodyna zasahují přímo do dráhy bolesti v mozkové kůře. Tlumí somatickou i viscerální bolest, mají schopnost inhibovat jak algognostickou (percepční a lokalizační) složku bolesti, tak i algetickou (psychickou a emocionální) složku bolesti. Somatická bolest nastává v důsledku aktivace periferních receptorů – nociceptorů. Bolest může být ostrá i tupá, je možné ji dobře lokalizovat. Povrchovou bolest pociťujeme na kůži, hlubokou ve svalech, kostech kloubech a jako bolest hlavy. Viscerální bolest nastává jako důsledek aktivace útrobních nociceptorů. Bývá v hloubce, ale může se projevit i do kůže. Často má pulsující nebo křečovitý charakter. Dále opioidní analgetika ovlivňují vědomí, tlumí dechové centrum a mají také antitusické působení. Jejich hlavním rizikem je, že při dlouhodobějším podávání na ně může vzniknout drogová závislost, což je důvodem, proč většina anodyn podléhá zvláštním ustanovením.

Pro jejich předpis je nutné vyplnit speciální formulář, tzv. opiátový recept označený úhlopříčným modrým pruhem. Další nařízení stanovuje, že o příjmu a výdeji těchto látek musí být veden záznam ve zvláštní knize.

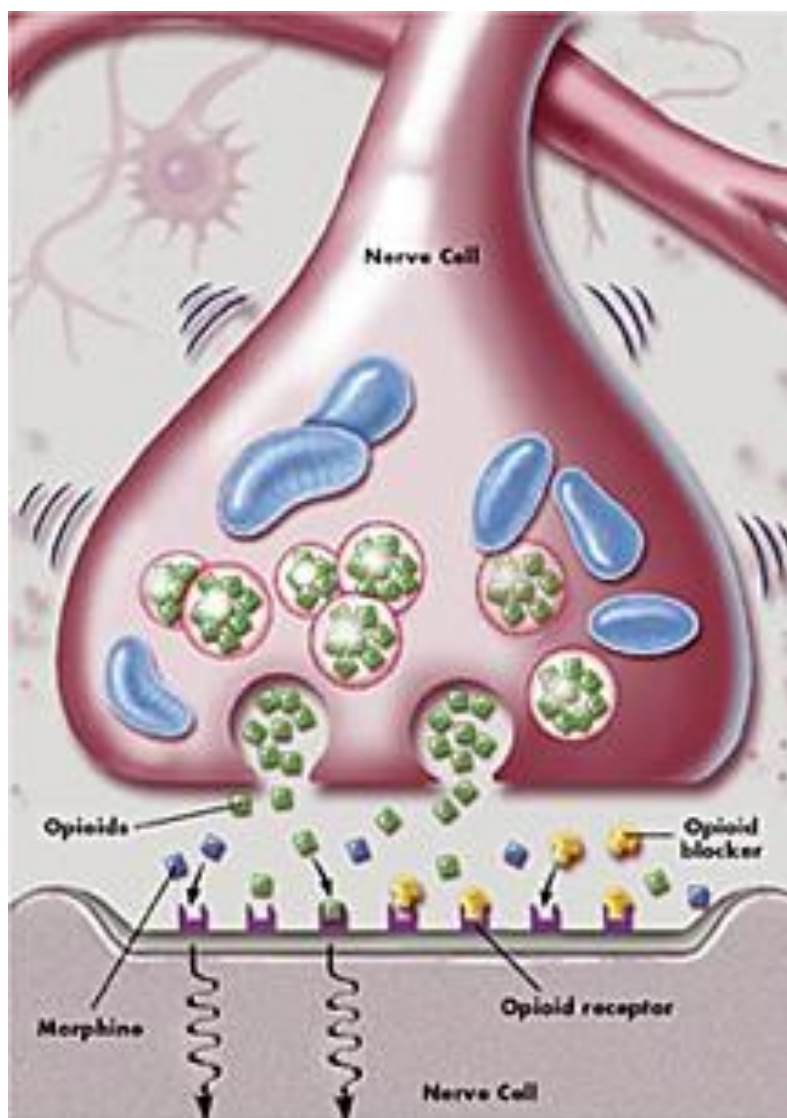
3.2.1 Opioidní receptory

Opioidní receptory se nachází na povrchu buněčné stěny nervových buněk v CNS a míše, ve sliznici trávicího ústrojí a močového měchýře. Jsou zodpovědné za analgetické působení tak, že jejich stimulace způsobí snížené vedení a přenos bolestivých signálů. Receptory jsou ve tkáních přítomny ve stavu dynamické rovnováhy, což znamená, že postupně zanikají a jsou nahrazovány receptory jinými. Receptor se skládá jednak z vlastní bílkoviny, jednak z tzv. G-proteinu, který tvoří s bílkovinou receptoru funkční komplex. Všechny doposud známé opioidní receptory fungují prostřednictvím vazby na tento protein. *„Při jejich aktivaci dochází k inhibici adenylylcyklasy a k intracelulárnímu poklesu cAMP. Prostřednictvím G-regulačního proteinu ovlivňují opioidní analgetika i iontové kanály. Na presynaptických nervových zakončeních aktivace kappa receptorů inhibuje vstup vápníku napěťově závislými vápníkovými kanály a vede ke snížení uvolňování neurotransmiterů acetylcholinu (μ receptory), noradrenalinu (δ receptory), serotoninu a substance P do synapse a k inhibici synaptického přenosu. Na postsynaptickém neuronu zvýšením prostupnosti pro draslík (otevírají draslíkové kanály) vyvolávají hyperpolarizaci neuronu a inhibici propagace nervového stimulu.“*⁶

V centrálním nervovém systému jsou popsány tři základní typy opioidních receptorů: μ , delta a kappa. Dále se v CNS nacházejí receptory sigma a epsilon. Receptory sigma ale již mezi opioidní nepatří, přestože jejich stimulace vede k dysforii, halucinacím a psychotomimetickým účinkům. Později byly identifikovány dva subtypy μ receptoru, tři subtypy receptoru kappa a dva receptoru delta.

⁶ DAGMAR, Lincová; HASSAN, Farghali. *Základní a aplikovaná farmakologie : Druhé, doplněné a přepracované vydání*. Praha : Galén, 2007. Opioidní analgetika a jejich agonisté, s. 289. ISBN 978-80-7262-373-0.

Za fyziologických podmínek slouží opioidní receptory k vazbě endogenních opioidů, jakými jsou endorfiny, enkefaliny a dynorfiny.



⁷ Drogový informační server [online]. 2006 [cit. 2010-03-05]. Odborníci. Dostupné z WWW: <http://www.drogy.net/portal/pro-odborniky/cesky-odborny-tisk/opioidni-analgetika_2006_09_04.html>.

Endogenní opioidy

Endogenní opioidy jsou látky s peptidovou strukturou, které si organismus vyrábí sám. Fyziologicky se jedná o neurotransmitery, neuromodulátory či hormony s inhibičním vlivem na CNS i PNS. Běžně se vyskytují v CNS i jinde v organismu, na příklad v gastrointestinálním traktu. Jejich hlavním úkolem je chránit jedince proti bolesti jak za fyziologických, tak za patologických stavů. Sekrece endogenních opioidů je individuálně rozdílná. Obvykle stoupá při fyzické práci a sportu. Říká se jim „hormony dobré nálady“, jelikož zvyšují pocit tělesného blaha. Dosud byly identifikovány tři skupiny: endorfiny, enkefaliny a dynorfiny. Vznikají v nervové tkáni z progenitorů, podobně jako další peptidové transmitery či peptidové hormony. Všechny obsahují sekvenci aminokyselin, která tvoří některý z enkefalinových pentapeptidů.

Základem pro jejich vznik jsou tři prekurzorové peptidy: pro-opiomelanokortin (POMC), pro-enkefalin A, pro-enkefalin B (pro-dynorfin), z nichž se postupnou hydrolýzou tvoří aktivní opioidní peptidy. Všechny tři skupiny fyziologicky produkováných opioidních peptidů se váží na odpovídající opioidní receptory. Z POMC vznikají i neopiodní peptidy, kterými jsou adrenokortikotropní hormon, melanocyty stimulující hormon a β -lipotropin, který obsahuje sekvenci endogenních opioidů met-enkefalinu a β -endorphinu. Endorfiny neboli *endogenní morfiny* jsou polypeptidy. Vznikají v hypofýze, nejsou přítomny v míše a jsou účinnější než enkefaliny. Je prokázáno, že endogenní opioid beta-endorfin má stejné působení na μ a delta receptory. Z pro-enkefalinu vznikají metionin-enkefalin a leucin-enkefalin. Enkefaliny jsou pentapeptidy. Nachází se a působí v celém CNS, hlavně v zadních rožích míšních. Enkefaliny upřednostňují delta receptory. Pro-enkefalin B je společným předstupněm pro dynorfin a neo-endorfin. Dynorfiny působí v celém CNS, je jich méně, ale jsou několikanásobně účinnější než endorfiny. Váží se zejména na receptory kappa.

„Tab. 1 Endogenní opiody“⁸

Prekurzor	Endogenní opioid	Sekvence aminokyselin
Proenkefalin	met-enkefalin leu-enkefalin	Tyr - Gly - Gly - Phe - Met Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu
Proopiomelanokortin (POMC)	b-endorfin + ACTH	Tyr ₁ - Gly - Gly - Phe - Met ₅ ... Glu ₃₁
Prodynorfin	dynorfiny	Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu ... Ile ₈ Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu ... Glu ₁₇ Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu ... Lys ₁₀ Tyr - Gly - Gly - Phe - Leu ... Pro ₉

3.2.2 Distribuce receptorů

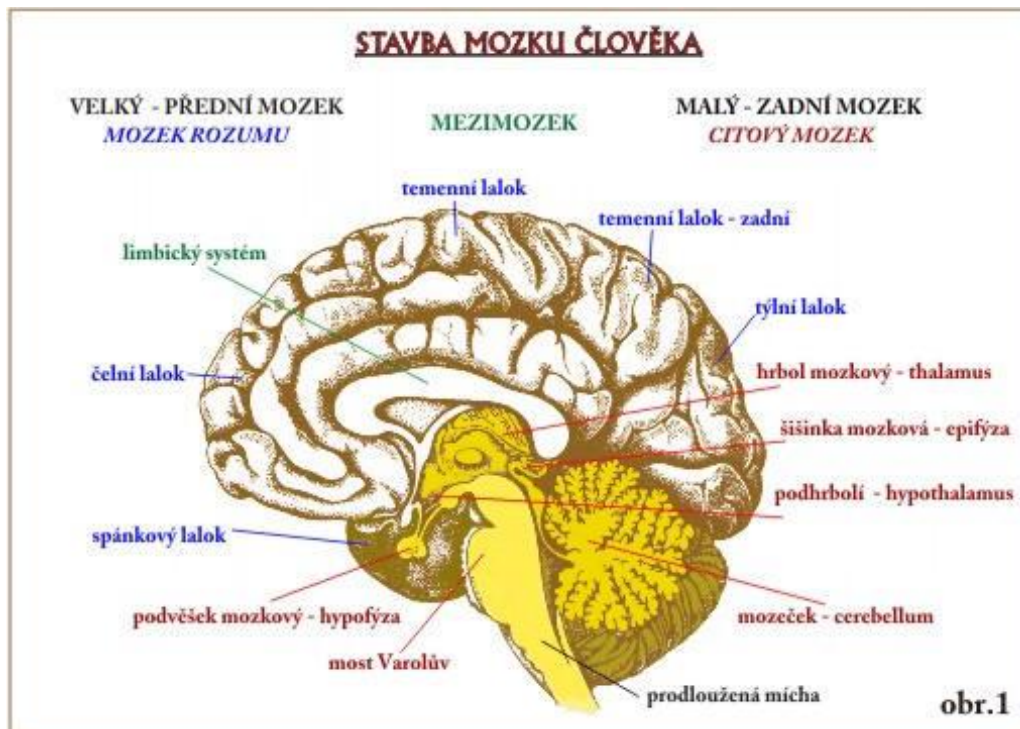
Opioidní receptory jsou v CNS distribuovány nerovnoměrně. V některých mozkových strukturách jsou zastoupeny hojně všechny typy opioidních receptorů, v některých nejsou některé typy zastoupeny vůbec.

1. Kmen	mediují respiraci, kašel, nausea a zvracení, TK, velikost pupily, sekrece žaludku
2. Mediální thalamus	mediují hlubokou, těžce lokalizovatelnou a emočně ovlivněnou bolest
3. Spinální mícha	substantia gelatinosa – přijímání a integrace přicházejících senzorických informací
4. Hypothalamus	receptory ovlivňující neuroendokrinní sekreci
5. Limbický systém	nejvyšší koncentrace opioidních receptorů je v amygdale – nejspíš nemají analgetický účinek, ale ovlivňují emoční chování

„Tab. 2 Nejvyšší densita v 5 oblastech mozku, které integrují vnímání bolesti“⁹

⁸ LÜLLMANN, Heinz, MOHR, Klaus, WEHLING, Martin. *Farmakologie a toxikologie : Překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. 2. vyd. Praha : Grada, 2004. Opiáty, s. 322. ISBN 80-247-0836-1.

⁹ Geršl, Vladimír. Analgetika [online] [prezentace]. [cit. 2010-02-03]. Dostupné z WWW:< www.lfhk.cuni.cz/farmakol/predn/.../Gersl_AnalgetikaCZ2006_2007web.ppt >.



„Obr. 4“¹⁰

3.2.3 Typy opioidních receptorů

Mí-receptory (OP₃)

Název těchto receptorů je odvozen od jejich hlavního agonisty - morfinu. Stimulace mí receptorů vyvolává analgezii na supraspinální úrovni, dále euforii, miózu, depresi dechového centra a centra pro kašel a obstipaci. Analgezie je zprostředkována dominantně mí₁ receptory, zatímco dechová deprese dominantně mí₂ receptory. Mí receptory jsou nejdůležitější pro vznik psychické i fyzické závislosti.

¹⁰ Český institut pro rozvoj a ochranu díla „VE SVĚTLE PRAVDY“ [online]. 2006 [cit. 2010-03-05]. O lidském mozku. Dostupné z WWW: <<http://ao-institut.cz/texty/Mozek/01-maly-velky-mozek.html>>.

Delta-receptory (OP₂)

Na delta receptory se vážou hlavně endogenní opioidy, enkefaliny. Název delta souvisí s hlavním agonistou *D*-Ala-*D*-Leu enkefalin. Nacházejí se rozptýleně v CNS s největší koncentrací v limbickém systému a ve frontálních lalocích. Enkefaliny se uvolňují při stresu a zvyšují tak práh bolestivosti, podílejí se také na regulaci hormonů hypofýzy. Receptory delta jsou zodpovědné za analgezii převážně na míšní úrovni.

Kappa-receptory (OP₁)

Název receptorů kappa je odvozen od hlavního agonisty - ketocyklazocinu. Ligandy vážající se na kappa receptory jsou mnohé syntetické látky užívané k léčebným účelům. Vyvolávají sice také analgezii, ta je však spojena s podstatně menším návykovým potenciálem. Tlumí bolest především na míšní úrovni. Analgetická účinnost je mnohem nižší než v případě μ receptorů. Aktivace kappa receptorů vede kromě analgezie také k sedaci a dysforií.

„Tab. 3 Efekty spojené s aktivací opioidních receptorů“¹¹

	μ	delta	kappa
Analgézie			
- supraspinální	+++	-	-
- spinální	++	++	+
- periferní	++	-	++
Dechová deprese	+++	++	-
Zúžení zorniček	++	-	+
Snížená motilita GIT	++	++	+
Euforie	+++	-	-
Dysforie	-	-	+++
Sedace	++	-	++
Tělesná závislost	+++	-	+

¹¹ *Ústav farmakologie* [online]. 2009 [cit. 2010-01-13]. Dostupný z WWW: <old.lf3.cuni.cz/ustavy/farmakologie/Opioidy.ppt>.

3.3 Rozdělení opioidních analgetik

Látky, které ovlivňují opioidní receptory, je možné podle poměru *afinity*, tj. síly vazby k receptoru, a *vnitřní aktivity* neboli efektivity, síly aktivace receptoru, rozdělit na několik skupin.

První skupinou jsou *čistí opioidní agonisté*. Jsou to látky se silnou vnitřní aktivitou a vysokou afinitu k μ -receptorům. Vyvolávají typické účinky opiátů. Jejich analgetický účinek je mohutný, po intravenózní aplikaci nastupuje do několika minut. Do této skupiny patří například morfin, fentanyl a methadon. Druhou skupinu tvoří *částeční opioidní agonisté*, kteří mají pevnou vazbu na receptor, ale nízkou vnitřní aktivitu. Analgetické účinky jsou nižší než u čistých agonistů, nelze je stupňovat zvýšením dávky a riziko závislosti je velmi malé. Zástupcem skupiny je buprenorfin. *Smíšené agonisté – antagonisté* jsou třetí skupinou. Váží se na receptory, některé aktivují a jiné blokují. Vyvolávají především spinální analgezii působením na kappa receptory. Příkladem smíšených agonistů - antagonistů je pentazocin nebo nalorphen. *Opioidní antagonisté* tvoří čtvrtou skupinu. Antagonisté mají silnou afinitu, ale nulovou vnitřní aktivitu. Ve stoupajících koncentracích antagonizují účinky endogenních opioidů i opioidních analgetik na všech receptorech, blokují tedy receptor a zabraňují účinku jiného opioidu. Z tohoto důvodu se užívají jako lék při předávkování. Typickým příkladem je naloxon. Poslední skupinu tvoří *atypické opioidy*. Hlavním zástupcem je tramadol, který má nízkou afinitu k opioidním receptorům. Jeho analgetický účinek vychází také ze schopnosti blokovat zpětné vychytávání noradrenalinu a serotoninu do nervových zakončení. Dle analgetického účinku - afinity k receptorům - jsou dále opioidní analgetika dělena na silná a slabá.

silná	slabá
morfin	kodein
oxykodon	tramadol
pethidin	nalbufin
buprenorfin	tilidin
fentanyl	pentazocin

3.4 Účinky morfinu a dalších čistých agonistů

3.5.1 Účinky na CNS

Analgezie

Opioidní analgetika slouží k potlačení vnímání bolesti. Lépe působí na chronické a těžké bolesti než na bolest ostrou a přerušovanou. Důležitou indikací opioidů jsou bolesti u nádorových onemocnění. Analgezii provází emoční zklidnění, pocit spokojenosti, zbavení se strachu, může vyústit v euforii, někdy se na druhou stranu objeví dysforie. Ve vysokých dávkách působí morfin hypnoticky, při předávkování narkoticky.

Útlum dechového centra

Díky centrálnímu účinku, především stimulací receptorů μ_2 , snižují opioidy citlivost dechového centra na tenzi oxidu uhličitého a vyvolávají tak těžký nežádoucí účinek - dávkově závislou depresi dechu. Léčebně se útlum dechového centra uplatňuje u plicního edému následkem levostranného selhání srdce nebo při asthma cardiale.

Antitusické účinky

Většina anodyn tlumí centrum pro kašel. Antitusické účinky nekolerují s intenzitou analgetického působení ani útlumem dýchání. Kodein a jeho derivát dihydrokodein se používají jako antitusika nejčastěji.

Euforie

Zejména při nitrožilním podání dojde k rychlému zaplavení organismu látkou, ale touha znovu vyvolat efekt vede ke vzniku euforie – psychické i fyzické závislosti.

Mióza

Parasympatické dráždění části jádra nervus oculomotorius vyvolává miózu. Zúžené zornice mají lidé závislí na opiátech, jelikož na tento účinek nevzniká téměř žádná tolerance.

Neuroendokrinní účinky

Morfin snižuje diurézu tím, že zvyšuje uvolňování antidiuretického hormonu. Dále stimuluje vzestup koncentrací prolaktinu, snižuje hladinu folikulstimulujícího, luteinizačního a adrenokortikotropního hormonu, testosteronu a kortisolu.



„Obr. 5“¹²

3.4.1 Periferní účinky

Kardiovaskulární systém

Vyšší dávky morfinu mohou způsobit vazodilataci a ortostatickou hypotenzi, na čemž se podílí vyplavení histaminu.

Účinky na hladkou svalovinu

Opiodní analgetika zvyšují napětí hladké svaloviny střev a močového měchýře, takže tlumí peristaltiku, tím vzniká zácpa. Způsobuje i retenci moči, protože tlumí pocit vnímání plného močového měchýře.

Inhibice pohybu řasinkového epitelu

Tlumí pohyb řasinkového epitelu v bronších, což způsobuje problémy s vykašláváním, a ve vejcovodu, takže brání posunu vajíčka a vzniká neplodnost.

¹² *Krystal Help : sdružení pro podporu prevence a práce s drogově závislými* [online]. 2008 [cit. 2010-04-01]. Ilegální drogy. Dostupné z WWW: <<http://www.krystalhelp.cz/index.php?pg=ilegalni&ppg=opi>>.

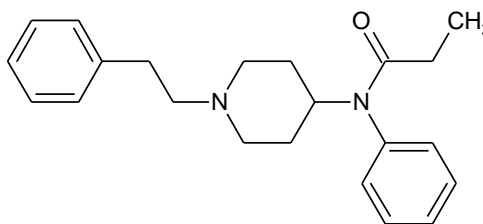
3.4.2 Další zástupci

Methadon

Methadon je syntetický preparát, farmakologicky totožný s morfinem. Díky silné vazbě na plazmatické i tkáňové bílkoviny má dlouhý poločas účinnosti, tudíž je považován za velmi silné analgetikum. Slouží hlavně k léčbě abstinenčních příznaků a substituční terapii při závislosti na heroinu.

Fentanyl

Fentanyl je vysoce účinný agonista mí receptorů. Analgetický účinek fentanylu je 60 - 80 x vyšší než morfinu. Na druhou stranu má také silný depresivní vliv na dechové centrum. Díky rychle nastupujícímu krátkodobému a intenzivnímu účinku je používán v anesteziologii.



3.5 Účinky parciální agonistů a smíšených agonistů-antagonistů

Látky patřící do této skupiny vyvolávají analgezií na spinální úrovni, která je zprostředkována kappa receptory. Jejich analgetické účinky i nežádoucí účinky jsou nižší než u čistých opioidních agonistů. Díky malému riziku závislosti nepodléhá jejich předepsání ustanovení o omamných látkách. Po jejich podání se často může objevit sedace, dysforie nebo psychotomimetické účinky. Útlum dýchání je mnohem menší než po podání μ -agonistů.

3.6.1 Zástupci

Buprenorphin

Buprenorphin je částečný agonista všech opioidních receptorů. Jeho molekula má základní strukturu morfinu, na dusíku má připojenou cyklopropylmethylovou skupinu. Má dobré analgetické účinky, působí dlouhodobě, může se podávat parenterálně nebo sublingválně a je vhodný u akutních i chronických bolestí. Stejně jako metadon se používá při závislostech na opioidech.



„Obr. 6“¹³

Pentazocin

Pentazocin je smíšený agonista - antagonist, na kappa a delta receptory působí agonisticky a na μ antagonisticky, což mu zaručuje minimální riziko vzniku závislosti. Jeho molekula obsahuje velkou část základní morfinové struktury, liší se od ní dimethylalylovým postranním řetězcem. Při parenterální aplikaci se jeho analgetické účinky zvyšují. Aktivuje i neopioidní receptory sigma, které jsou zodpovědné za psychotomimetické účinky, což patří mezi jeho nežádoucí působení.

3.6 Atypické opiody

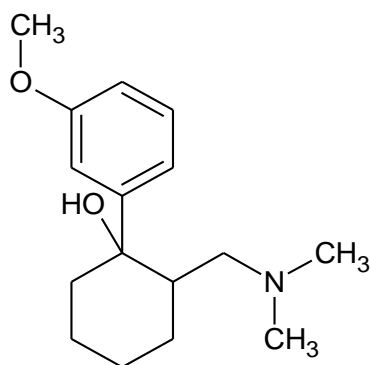
Jsou to látky, které se chemicky ostatním opioidům neliší, mají ale silné analgetické účinky. Opioidní receptory ovlivňují jen částečně nebo působí neurčitou cestou.

¹³ Drogová poradna : Občanské sdružení Sananim [online]. 2002-2010 [cit. 2010-03-05]. Opiáty. Dostupné z WWW: <<http://www.drogovapradna.cz/rubrika.php?rubrika=58>>.

3.7.1 Zástupci

Tramadol

Tramadol je racemát tvořený dvěma enantiomery s rozdílným mechanismem účinku. (+)-enantiomer působí ovlivněním μ -receptorů, (-)- enantiomer inhibuje zpětný neuronální příjem noradrenalinu. Analgetický účinek je přibližně šestkrát nižší než účinek morfinu, takže i nežádoucí účinky jsou méně výrazné. Nevede k lékové závislosti.



Tilidin

Účinnou látkou se tilidin stává až po methylaci v játrech, kde se přemění na nortilidin, který pak má analgetické a euforizující účinky. Na rozdíl od tramadolu podléhá předpisu o omamných látkách, jelikož může vyvolat závislost.

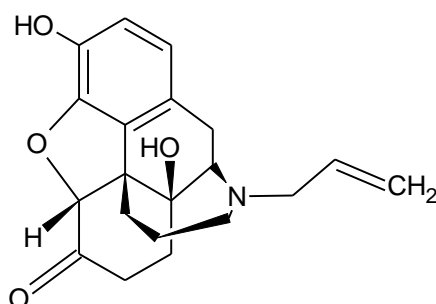
3.7 Antagonisté opioidních analgetik

Antagonisté nemají analgetický účinek jako opioidy, jsou jim ale farmakologicky a chemicky příbuzní. Inhibují na všech typech opioidních receptorů. Používají se jako účinná antidota, jelikož je jejich vnitřní aktivita nulová.

3.8.1 Zástupci

Naloxon

Chemicky je to N-allyl oxymorfon. Ve stoupajících koncentracích antagonizuje účinky opioidních analgetik na všech opioidních receptorech. Používá se jako antidotum při předávkování opioidy ke zrušení inhibice dechového centra. Naloxon ruší kompletně všechny účinky opioidů, nejen útlum dýchacího centra, ale i analgezii a u závislých jedinců mohou již malé dávky vyvolat abstinenční příznaky. Pro úplné chybění vnitřní aktivity je důležitá allylová skupina na dusíku.



Naltrexon

Naltrexon je analogem naloxonu, jeho účinek je ale dvojnásobně dlouhý. Po perorálním podání je velmi účinný. Používá se k udržení abstinence u osob těžce závislých na heroinu. Ani při dlouhodobých léčbách se neprojeví žádné nežádoucí účinky.

3.8 Nežádoucí účinky opioidních analgetik

Morfín a silná opioidní analgetika mohou způsobit mnoho nežádoucích účinků. K nejčastějším patří celkový útlum, nauzea, zvracení, svědění a stimulace n. vagus, což vede k poklesu krevního tlaku a bradykardii. Na tyto účinky, které se vyskytují na začátku léčby, vzniká během týdne tolerance. Dalšími problémy jsou obstipace, na kterou nevzniká tolerance a projímadla často neúčinkují, a retence moči, která je častou příčinou cévkování pacienta a je spojena se vznikem infekce. Nejzávažnější komplikací je dávkově závislý útlum dýchání, který je nejintenzivnější při intravenózní aplikaci zejména silných agonistů. Smrt nastává při předávkování, kdy dochází k obrně dýchání. Riziko vzniku drogové závislosti je dalším velmi

častým nežádoucím účinkem agonistů μ -receptorů. Při kombinaci opioidních analgetik s inhibitory monoaminoxidasy dochází k vážným nežádoucím účinkům jako jsou deprese dechu, excitace nebo útlum až delirium. I přes mnoho nežádoucích účinků patří mezi nejbezpečnější analgetika, jelikož opioidy prakticky nezpůsobují život ohrožující nežádoucí účinky.

3.9 Pozdní účinky

Návyk

Opakovaná a dlouhodobá aplikace opioidů vyvolává stále menší a menší farmakologickou odezvu, což znamená, že je zapotřebí stále vyšších dávek k dosažení stejného účinku. Návyk tedy znamená snižování účinku po opakovaném podání. Týká se všech účinků kromě zácpy a miózy. To znamená, že s rozvojem návyku nemocný toleruje stále vyšší dávky, aniž by došlo k intoxikaci. Návyk má zkřížený charakter, což znamená, že vyvine-li se na jedno léčivo z opioidních analgetik, platí i pro ostatní farmaka z této skupiny.

Závislost

Opioidy, zvláště po nitrožilním podání, vyvolávají euforii a netečnost k různým negativním podnětům a stresu. Euforizující účinek závisí na tom, jak rychle se zvýší hladina opioidů v CNS. Chorobná touha po opioidech neboli psychická závislost je rychle vystřídána závislostí fyzickou, což se projevuje abstinčním syndromem při náhlém vysazení analgetika.

Abstinční syndrom

Po náhlém přerušení přívodu opioidů dochází k rozvoji odvykacího stavu neboli abstinčního syndromu, který je pro jednotlivá farmaka charakteristický. U morfinu se počáteční abstinční příznaky objevují po čtyřech hodinách po poslední dávce a připomínají virové onemocnění, jelikož jsou přítomny záchvaty zimnice, střídající se s pocitem horka a nadměrným pocením. Dalšími typickými příznaky abstinčního syndromu jsou zvracení, průjem, dehydratace, intenzivní

bolesti břicha a svalů, zvýšeného krevního tlaku a tachykardie, anorexie a ztráty na váze. Závažnost syndromu záleží přímo úměrně na velikosti užívaných dávek a na době zneužívání analgetika. Obvykle mizí do dvou týdnů. U lidí závislých na opiátech je možné abstinенční příznaky vyvolat buď podáním naloxonu, ale i podáním parciálního agonisty nebo smíšeného agonisty – antagonisty.

3.10 Novější lékové formy

Mezi relativně nové lékové formy patří lingvety podávané sublinguálně, například u buprenorphinu, tablety s prodlouženým uvolňováním léčiva - retard, náplasti s fentanylem, jejichž podání je zvláště výhodné u pacientů s polykacími a dyspeptickými potížemi, které znemožňují pravidelnou perorální medikaci. Transdermální fentanyl je dále výhodný u nemocných s narušeným příjmem tekutin, u nichž hrozí dehydratace, a tím zhoršení funkce ledvin. Vhodnou lékovou formou zejména pro děti jsou lízátka obsahující rovněž fentanyl.

4 Chromatografie

4.1 Princip chromatografie

„Chromatografie je analytická i preparativní dělicí metoda, při níž se dosahuje rozdělení látek na základě jejich rozdílné migrace v systému dvou fází – zakotvené neboli stacionární a pohyblivé neboli mobilní. K rozdílu v migraci dochází na základě rozdílné adsorpce, rozdělování, výměny iontů, efektu molekulárního síta apod. Podle tohoto kritéria dělíme chromatografii na adsorpční, rozdělovací atd. Často se však jednotlivé mechanismy překrývají a kombinují. Síly, které se přitom uplatňují, jsou povahy fyzikální (elektrostatické interakce a dipóly, π -interakce, van der Waalsovy síly atd.) i chemické.“¹⁴

Stacionární fázi je obvykle tuhý sorbent nebo kapalina zachycená na nosiči. Mobilní fáze představuje buď kapalina, nebo plyn. Podle skupenství mobilní fáze lze rozlišit chromatografii kapalinovou nebo plynou. Podle způsobu provedení můžeme dále rozlišit chromatografii sloupcovou (plynová a kapalinová) a chromatografii plošnou (na papíře a na tenké vrstvě).

Při plošné chromatografii se látky pohybují po chromatogramu v podobě skvrn a detekují se pomocí vhodné fyzikální či chemické metody. Látky vytvářejí na chromatogramu široké pruhy, které lze mechanicky oddělit a rozdělovanou látku je možné dále použít pro účely kvantitativní analýzy. Výhodou této analýzy je, že je možné současně spolu se vzorkem analyzovat i jiné autentické sloučeniny pro potvrzení identity jednotlivých složek analyzované směsi nebo srovnání intenzity jejich skvrn. Poloha skvrn a chování při detekci jsou charakteristické pro každou sloučeninu.

¹⁴ GASPARIČ, Jiří; CHURÁČEK, Jaroslav . *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin*. Praha : SNTL, 1981. Principy Chromatografie, s. 11.

4.2 Chromatografie na tenké vrstvě

„K chromatografickému procesu zde dochází při průtoku mobilní fáze tenkou vrstvou jemnozrnného sorbentu nebo nosiče zakotvené fáze, který je rozprostřená buď volně uložen (nasypan), nebo fixován na vhodné podložce. Podložkou je buď skleněná deska, nebo hliníková, popř. platová fólie. Tenké vrstvy se připravují v laboratořích nebo se používají komerční desky nebo folie s nanesenou tenkou vrstvou.“¹⁵ Vzorek se nanáší na start a po odpaření rozpouštědla, se deska vloží do chromatografické komory, ve které je na dně mobilní fáze. Vyvíjí se vzestupně nebo horizontálně. Když čelo dosáhne potřebné vzdálenosti, chromatogram se vyjme z komory a po uschnutí se provede detekce. Poloha, která je vyjádřena hodnotou R_F , je pro každou látku charakteristická.

4.2.1 Materiály pro tenké vrstvy

Materiály, absorbenty a nosiče zakotvené fáze musí pro přípravu tenkých vrstev splňovat určité speciální požadavky jako je čistota, zrnění a vlastnosti rozhodující pro adsorpční, rozdělovací a jiné procesy.

Adsorbenty jsou tuhé látky, které jsou schopné na svém povrchu působením fyzikálních či chemických sil reverzibilně vázat chemické sloučeniny v kapalně či plynné fázi. Chemická povaha absorbentu, velikost a povaha jeho povrchu jsou faktory, které ovlivňují adsorpční mohutnost. Velikost pórů ovlivňuje především adsorpci látek s různě velkou molekulou. Adsorbenty, které mají jemné póry, adsorbují látky, jejichž molekuly mají menší rozměry, než jsou rozměry pórů. Další vlastností absorbentů je jejich aktivita. Aktivita polárních absorbentů jako je silikagel nebo oxid hlinitý lze upravovat, na příklad vyžiháním nebo vyhřátím na příslušnou teplotu je možné získat aktivní sorbenty. Stupeň aktivity je nutný přizpůsobit polaritě látek, které postupují chromatografické analýze.

¹⁵ GASPARIČ, Jiří; CHURÁČEK, Jaroslav . *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin*. Praha : SNTL, 1981. Technika chromatografie na tenké vrstvě, s. 32.

Nosičem kapalné fáze jsou látky, jejichž velikost částic umožňuje pravidelný a přiměřený rychlý průtok mobilní fáze a zároveň je schopný pojmout zakotvenou fázi, kterou představuje buď voda, nebo málo těkavé rozpouštědlo. Nejčastěji se používá silikagel nebo prášková celulóza.

4.2.2 Příprava a nanášení vzorku

Analyzované látky se v určitém množství a zbavené nečistot nanášejí na start v podobě roztoků ve vhodných rozpouštědlech. Rozpouštědlo by mělo být natolik těkavé, aby se z papíru snadno odstranilo a chemicky ho nějak neatakovalo. Koncentrace vzorku je volena podle potřebného množství látky, které je třeba na chromatogram nanést. Množství chromatografovaných látek se pro jednu skvrnu nejčastěji pohybuje v rozmezí od 0,1 do 100 µg. Nejvhodnější objemy, které se nanášejí, jsou tedy 2 – 20 µl, takže koncentrace roztoků, které jsou nanášeny na chromatogram je 0,1 – 5 %.

K nanášení vzorku na chromatogram lze použít mikropipety, injekční stříkačky nebo obyčejné kapiláry. Vzorek by se měl do papíru vsáknout a vytvořit skvrnu o průměru maximálně 0,5 cm. Když rozpouštědlo vytěká, můžeme nanášení opakovat. U méně těkavých rozpouštědel lze k vysoušení použít teplý vzduch nebo infračervenou lampu.

4.2.3 Vyvíjení chromatogramu

Technika vyvíjení závisí na tom, zda se jedná o vrstvy sypané, nebo lité. V případě sypaných vrstev se vysušený chromatogram umístí do skleněné vany v šikmé poloze ve sklonu 20° tak, že spodní konec zasahuje do mobilní fáze, která je na dně, a start s nanesenými látkami je asi 1 cm nad hladinou. Jedná-li se o nalévané vrstvy, vyvíjení je vždy vzestupné. Na dno chromatografické komory se nalije mobilní fáze a deska se do ní postaví tak, aby start byl přibližně 1 cm nad hladinou rozpouštědla. V jedné komoře lze vyvíjet pouze dvě desky, které jsou proti sobě

postavené ve tvaru písmene V. Kvalita skvrn a dělení je značně ovlivněna stupněm nasycení komory párami mobilní fáze.

4.2.4 Volba vrstvy a mobilní fáze

„Vychází se z rozpustnosti a polarity chromatografovaných látek a požadovaného dělení.

Látky rozpustné v organických rozpouštědlech. Pro nepochárny látky volíme buď adsorpční chromatografii, nebo rozdělovací chromatografii na obrácených fázích. Středně polární a ještě polárnější látky chromatografujeme na principu adsorpčním (silikagel použijeme pro látky neutrální a kyselé, oxid hlinitý pro látky neutrální a bazické), nebo rozdělovacím, se zakotvenou polární organickou fází.

Látky rozpustné ve vodě. Látkám neiontového charakteru vyhovuje obvykle rozdělovací chromatografie (celulosa, křemelina, silikagel) s vhodnými mobilními fázemi. Pro látky iontové povahy volíme obdobně chromatografii rozdělovací nebo použijeme vrstvy s měničemi iontů.“¹⁶

Pro volbu mobilní fáze při adsorpční chromatografii platí, že čím méně polární a strukturně bližší si dělené látky budou, tím méně polární bude muset mobilní fáze být.

4.2.5 Detekce

Detekce je závěrečným krokem chromatografie. Způsoby detekce lze rozdělit do tří skupin. První skupinu tvoří metody fyzikální. Chromatogram se nejprve pozoruje v denním světle a zaznamenává se poloha skvrn. Následně se chromatogram pozoruje v ultrafialovém záření. Některé látky se projeví jako fluoreskující skvrny, některé naopak fluorescenci zhasí a jeví se jako tmavé skvrny na světle fluoreskujícím papíru. Druhou skupinu tvoří metody chemické, které jsou založeny na reakci sloučeniny na chromatogramu s vhodným činidlem, které se

¹⁶ GASPARIČ, Jiří; CHURÁČEK, Jaroslav . *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin*. Praha : SNTL, 1981. Technika chromatografie na tenké vrstvě, s. 50.

aplikuje v podobě kapalné nebo plynné, za vzniku barevné nebo fluoreskující látky. Po postřiku se chromatogram nechá oschnout a následně se zahřívá v sušárně až do okamžiku, kdy jsou skvrny viditelné. Další skupinou jsou metody biologické, při nichž se využívá biologické aktivity chromatografovaných látek jako jsou například enzymy nebo antibiotika. Obdobou biologických detekcí jsou zkoušky na látky, které mají určité technologické vlastnosti (např. působit jako antioxidanty nebo schopnost zabraňovat korozi).

4.2.6 Hodnoty R_F a tvar skvrn

*„Každá sloučenina má v daných podmínkách charakteristickou rychlost migrace, určující její polohu na chromatogramu. K vyjádření rychlosti migrace se používají tzv. hodnoty R_F (retardation factor). Je to poměr vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenosti čela rozpouštědla od startu. To znamená, že se hodnoty R_F pohybují od 0 do 1: pro látky u startu se blíží nule, pro látku u čela se blíží jedné.“*¹⁷

Často se používá stonásobek hodnot R_F . V případech, kdy není možné zjistit čelo rozpouštědla, se používají tzv. hodnoty R_x , které vyjadřují polohu látky k látce X, jejíž R_F je rovno 1. R_x se tedy rovná poměru vzdálenosti určité látky od startu a vzdálenosti X od startu.

Při přesném dodržování experimentálních podmínek by měly být hodnoty R_F reprodukovatelné, ale jelikož jsou ovlivněny několika faktory, jako je například teplota, druh papíru, způsob vyvíjení, aktivita vrstvy, množstvím naneseného vzorku, jejich hodnoty při praktickém provádění kolísají. I přes nedostatky má určování hodnot R_F svůj význam. Informují o přibližném chování dané sloučeniny v použité soustavě, tabulka hodnot je ukazatelem vhodnosti soustavy a účinnosti i zákonitosti dělení látek a porovnáním vzorku se standardy lze velmi snadno určit, o kterou látku se jedná.

¹⁷ GASPARIČ, Jiří; CHURÁČEK, Jaroslav . *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin*. Praha : SNTL, 1981. Technika chromatografie na tenké vrstvě, s. 29 – 30, 54 - 55.

K měření hodnot R_F se používají jednoduché pomůcky. Nejčastěji je to pryžový pásek s měřítkem od 0,0 do 1,0 děleným po 0,01.

Tvar skvrn podléhá vlivu mnoha faktorů. V optimálním případě jsou skvrny ostré a dobře oddělené. Při předávkování chromatografované látky, vytékáním mobilní fáze nebo vlivem teplotního spádu v komoře mohou nastat poruchy.

4.2.7 Dokumentace tenkých vrstev

Výsledky chromatografie na tenkých vrstvách je možné zaznamenávat a uchovávat dvojím způsobem. Můžeme dokumentovat původním chromatogramem, který je možné stabilizovat ochranným prostředkem, nebo chromatogram překreslíme, ofotíme či naskenujeme.

5 Infračervená spektrofotometrie

„Infračervená spektrofotometrie je analytická metoda založená na schopnosti látky absorbovat elektromagnetické vlnění o vlnových délkách (λ) 800 nm až 1 nm (10 cm^{-1} až $12\,500\text{ cm}^{-1}$), které označujeme jako infračervené záření. Infračervené záření dělíme na blízké (1000 až 20 nm, resp. 20 až 500 cm^{-1} , střední (20 až 2,5 nm, resp. 500 až 4000 cm^{-1}), které má největší význam pro určování struktury, a daleké (2,5 až 0,8 nm, resp. 4000 až $12\,500\text{ cm}^{-1}$). Když molekuly měřené látky absorbují infračervené záření, dochází ke zvýšení jejich vibrační (v plynné fázi také rotační) energie. Infračervená absorpční spektra tak poskytují informaci o vibračních pohybech molekuly. Ty jsou pro ni charakteristické, a proto lze spekter využít při identifikaci látek a určování struktury. Vibrační pohyb je v nejjednodušším případě dvouatomové molekuly možno přibližně popsat modelem harmonického oscilátoru. Přitom se předpokládá, že oba atomy molekuly na sebe působí ve směru vazby silou přímo úměrnou odchylce délky vazby od rovnovážné polohy. Absorpce elektromagnetického záření je důsledkem jeho interakce s oscilujícím dipólem. Intenzita, s jakou se ve spektru objeví vibrace dvouatomové molekuly, proto závisí na změně dipólového momentu molekuly při prodloužení, resp. zkrácení vazby. Dipól v molekule HBr způsobuje, že tato molekula absorbuje infračervené záření, naproti tomu molekula kyslíku O_2 dipólový moment nemá a ani ho nezíská prodloužením nebo zkrácením vazby. Proto tato molekula nebude absorbovat infračervené záření.

Na n-atomovou molekulu lze pohlížet jako na soubor několika nezávislých harmonických oscilátorů, z nichž každý kmitá s odlišnou frekvencí. Mohutnost absorpce infračerveného záření závisí stejně jako u dvouatomové molekuly na změně dipólového momentu molekuly při prodloužení, resp. zkrácení vazby. U symetrických molekul se proto může stát, že některá vibrace není v IČ aktivní, tzn. že se neprojeví ve spektru odpovídajícím absorpčním pásem. Amplitudy výchylek jednotlivých atomů molekuly jsou pro jednotlivé normální vibrace různé, často však můžeme vibrační pohyb molekuly při normální vibraci lokalizovat na určitou funkční skupinu nebo vazbu. Takové skupiny nebo vazby jsou potom ovlivňovány ostatními atomy v molekule jen v malé míře. Poloha absorpčních pásů

a jejich intenzita, kterými se projeví v IČ spektru, se příliš neliší, je-li tato funkční skupina vázána v různých molekulách. Tato skutečnost umožnila sestavit tabulky vlnočtů charakteristických vibrací důležitých skupin a vazeb. Tyto tabulky se používají pro identifikační účely. Podle toho, která souřadnice se nejvíce uplatňuje v normálních souřadnicích, rozeznáváme různé typy vibrací. Mění-li se při vibraci především délky vazby, hovoříme o valenční vibraci, při změně úhlů se jedná o deformační vibraci, kmitá-li nějaký atom mimo rovinu ostatních atomů, jedná se o mimorovinnou vibraci.”¹⁸

5.1 Infračervený spektrometr

Infračervený spektrometr je přístroj, který umožňuje měřit závislost absorpčních vlastností vzorku na vlnočtu v oblasti IČ záření. Keramická tyčinka, která při zahřátí na 1000 °C emituje spojitě záření v infračervené oblasti, je zdrojem záření. Výsledkem je infračervené spektrum látky, tj. závislost procentické propustnosti (tj. transmittance) nebo absorbance na vlnočtu nebo vlnové délce. Oblasti spekter se označují jako absorpční pásy. Obvykle jsou charakterizovány polohou maxima a relativní intenzitou.

5.2 Závislost na experimentálních podmínkách

Většina organických i velká část anorganických látek vykazuje v IČ spektru intenzivní absorpci. Absorbance je podle Lambertova - Beerova zákona přímo úměrná koncentraci aktivní látky a tloušťce měřené vrstvy roztoku. Měřit se proto musí jen velmi tenké vrstvy látek (řádově 0,1 až 0,01 nm) nebo látku rozpustit a naředit vhodným rozpouštědlem. Organická rozpouštědla, která jsou používána v IČ oblasti, musí být propustná v co nejširším rozsahu spektra. Pouze několik organických rozpouštědel například chlorid uhličitý, sirouhlík, chloroform tento požadavek splňuje. Jelikož všechna rozpouštědla mají vlastní absorpci, musí se pro získání úplného spektra kombinovat měření v různých rozpouštědlech.

¹⁸ ChemWeb by Luky [online]. 2005-2009 [cit. 2010-03-31]. Články. Dostupné z WWW: <<http://www.chemweb.estranky.cz/clanky/ksicht---serial>>.

Látky, které jsou nerozpustné v organických rozpouštědlech, lze měřit metodou suspenze v parafinovém oleji, metodou KBr tablety nebo technikou difúzní reflexe.

5.3 Informace vyplývající z IČ spektra o struktuře látky

Infračervené spektrum má z hlediska kvalitativní analýzy látek dvě významné vlastnosti. První je, že pro jednotlivé látky je v detailech charakteristické, takže prakticky neexistují dvě sloučeniny, které by měly zcela shodné IČ spektrum. Druhou vlastností je, že jednotlivé funkční skupiny se projevují ve spektru podobně, a tak je možné rozbořením IČ spektra zjistit přítomnost konkrétních funkčních skupin v molekule, a tím vyloučit výskyt jiných funkčních skupin. *„Pro nalezení funkčních skupin v molekule potřebujeme tabulky vlnočtů charakteristických vibrací. V tabulkách jsou pro každou funkční skupinu na základě empirických zkušeností uvedeny intervaly vlnočtů, ve kterých se daná funkční skupina musí projevit absorpcí a dále relativní intenzita příslušného absorpčního pásu. Šířka intervalů vlnočtů je ovlivněna zbytkem molekuly. Některé skupiny jsou charakterizovány několika absorpčními pásy, jiné pouze jedním. Má-li být daná funkční skupina prokázána, musí být nalezeny všechny absorpční pásy, které ji charakterizují, a zároveň by měly odpovídat intenzity jednotlivých absorpčních pásů. Naopak z nepřítomnosti pásů v určitých oblastech lze přítomnost některých funkčních skupin nebo vazeb vyloučit.”*¹⁹

¹⁹ ChemWeb by Luky [online]. 2005-2009 [cit. 2010-03-31]. Články. Dostupné z WWW: <<http://www.chemweb.estranky.cz/clanky/ksicht---serial>>.

III. Praktická část

6 Materiál pro analýzu

Cílem práce je porovnat přítomnost alkaloidů opia ve vzorcích makovic ze třech různých oblastí v České republice. Zvolila jsem si tři kraje, a to Liberecký, Královéhradecký a Středočeský. Analýzu jsem prováděla se dvěma skupinami vzorků, které se lišily ve způsobu zpracování. První skupinu vzorků jsem získala seškrábáním zaschlé hnědé šťávy ze zhruba 50 nezralých makovic z každého kraje, navíc jsem k této skupině přidala ještě vzorek opia získaný ze 40 makovic z domácí zahrady, která se nachází v obci Kovač, okres Jičín. Seškrábané opium jsem uchovávala v suché krabici. Druhou skupinu vzorků jsem získala z přibližně 30 nezralých makovic z každého kraje. Opium získané seškrábáním z makovic jsem extrahovala v isopropanolu. Celková doba extrakce činila deset týdnů, v případě domácího vzorku jedenáct týdnů.

6.1 Typy půd na místech sběru

V Královéhradeckém kraji jsem makovice nasbírala na poli poblíž vesnice Valdice, nacházející se 2 km od Jičína. V této oblasti se vyskytuje *šedozem*. Tento půdní typ je plošně málo zastoupený, nejvíce je rozšířen právě v Královéhradeckém kraji, ale také i na Hané. Klimatické podmínky v těchto oblastech jsou chladnější a vlhčí než u černozemí, nepřesahují nadmořskou výšku větší než 300 m n. m. Půdotvorným substrátem je spraš. Šedozemě jsou využívány v zemědělství, patří k jednomu z nejproduktivnějších půd, které jsou vhodné pro pěstování nejnáročnějších plodin. Ve Středočeském kraji jsem pole máku setého našla u obce Soleček, která se nachází v okrese Mladá Boleslav. Typem půdy, kde jsem makovice nasbírala, je *hnědozem*, která se vyskytuje v nižším stupni pahorkatin nebo okrajových částech nížin v nadmořské výšce mezi 200 až 450 m n. m. Půdotvorným substrátem je spraš a sprašová hlína. Půdní reakce je kyselá. Hnědozemě jsou

nejčastěji středně těžké půdy, jsou vhodné k zemědělským účelům. Nejvhodnější plodiny k pěstování jsou obiloviny jako pšenice, ječmen, cukrovka a vojtěška.

V Libereckém kraji jsem objevila makové pole poblíž obce Zahrádky, která se nachází u České Lípy. Půdní typy v těchto oblastech jsou *pseudogleje s hnědými půdami oglejenými*. Pseudogleje se vyskytují ve středních výškových polohách. Půdní reakce jsou kyselé až silně kyselé, sorpční vlastnosti špatné. Díky kyselé reakci jsou půdy méně úrodné. Hnědé půdy oglejené se prolínají s pseudoglejemi. Tyto půdy jsou střední až nižší kvality. Poslední vzorek jsem získala z domácí zahrady v obci Kovač, která je vzdálená 13 km od Jičína. Půdní typ oblasti je *pelosol* - pelozem. V Čechách nejsou příliš rozšířené, nejčastěji se vyskytují v severovýchodních Čechách, v menší míře i ve středních. Jsou to velmi těžké půdy, vázané na horniny, které poskytují zvětraliny. Nacházejí se do nadmořské výšky 400 m n. m. Po chemické stránce jsou tyto půdy příznivé, dají se na nich pěstovat i náročnější zemědělské plodiny.

6.2 Získání opia

Sběr jsem uskutečnila na začátku července roku 2009. V každé ze všech zmiňovaných oblastí jsem na poli máku setého natrhla přibližně 80 nezralých makovic. Následně jsem makovice nařezala skalpelem podélnými řezy. Z makovice začala vytékat bílá mléčná šťáva, která na světle rychle hnědla a zasychala. Takto nařezané makovice jsem uchovávala na stinném místě. Další den jsem z makovic skalpelem seškrábala zaschlou hnědou hmotu - pryskyřici. Větší část jsem dala do suché krabičky a druhou menší část jsem extrahovala v isopropanolu. Tímto postupem jsem získala dvě skupiny vzorků.

6.2.1 První skupina vzorků

První skupinu vzorků jsem získala seškrábáním zaschlé hnědé šťávy ze zhruba 50 nezralých makovic z každého kraje, navíc jsem k této skupině přidala ještě vzorek opia získaný ze 40 makovic z domácí zahrady.

Průkaz alkaloidů

Příprava roztoků opia

Nejprve jsem na předvážkách zjistila hmotnosti všech vzorků sušeného opia. Následně jsem jednotlivé vzorky smíchala s 10 ml 70 % ethanolu a 30 minut zahřívala na vodní lázni. Během zahřívání jsem striktně dodržovala teplotu 60 °C, aby nedošlo k destrukci alkaloidů. Po zahřívání jsem roztok přefiltrovala a jeho objem upravila přibližně na 3 – 3,5 ml. Získala jsem čtyři vzorky, které měly typický omamný zápach opia, ale barvou se lišily.

Královéhradecký kraj

Hmotnost práškového opia činila 0,237 g. Po zfiltrování jsem upravila objem na 3,4 ml. Barva roztoku byla lehce nažloutlá.

Liberecký kraj

Navážila jsem 0,208 g sušeného opia. Objem po zfiltrování jsem upravila na 3,5 ml. Roztok byl o něco světlejší než v případě předchozím.

Středočeský kraj

Vzorek opia měl hmotnost 0,273 g. Po filtraci jsem objem upravila na 3,5 ml. Roztok měl světle oranžovou barvu.

Domácí vzorek

Hmotnost domácího vzorku byla ze všech největší 0,434 g. Objem jsem upravila na 3 ml. Roztok se barevně lišil od ostatních, jelikož byl tmavšího vzhledu.



Obr. 7 Připravené vzorky

ST=Středočeský kraj, KH=Královéhradecký, L=Liberecký, D=domácí vzorek

Vzorky jsem postoupila chromatografické analýze na tenké vrstvě.

Vzestupná chromatografie

Do chromatografické komory jsem nalila 100 ml mobilní fáze, kterou jsem připravila smícháním toluenu – acetonu – 25% amoniaku – ethanolu, látky jsem namíchala v poměru 45 : 45 : 3 : 7. Nasycenou komoru jsem použila přibližně 40 minut po nalití rozpouštědel. Na chromatografický papír Silufol UV 254 od firmy Whatman velikosti 20 x 20 cm jsem si 2 cm od dolního okraje vyznačila tužkou start a ve vzdálenosti 10 cm od startu jsem vyznačila čelo. Na start jsem mikropipetou nanášela jednotlivé vzorky. Na každém chromatogramu jsem si na startu vyznačila dvě místa a na každé z nich jsem vždy nanesla 2 x 10 µl jednoho vzorku. Celkem jsem měla čtyři takto připravené chromatogramy, které jsem postupně vyvíjela v chromatografické komoře. Doba vyvíjení činila 40 minut. Po vyjmutí chromatogramů z komory byly místy lehce patrné světle žluté skvrny. Suché chromatogramy jsem v digestoři postříkala detekčním činidlem.

Detekční činidlo

K detekci alkaloidů jsem použila Dragendorffovo činidlo, které jsem připravila smícháním dvou roztoků. Pro přípravu prvního roztoku jsem navázila 0,850 g dusičnanu vizmutitého, který jsem smíchala se 40 ml vody, dále jsem přidala 10 ml kyseliny octové. Druhý roztok jsem připravila rozpuštěním 8 g jodidu draselného ve 20 ml vody. Oba roztoky jsem smíchala a přelila do tmavé lahvičky.

Pro detekci jsem 10 ml zásobního roztoku smíchala s 20 ml kyseliny octové a 100 ml vody. Odvětraný chromatogram jsem rovnoměrně pomocí rozprašovače postříkala detekčním činidlem. Alkaloidy se projeví jako oranžové skvrny na světlejším pozadí

Alkaloidy

Pokud byly ve vzorku alkaloidy přítomny, projeví se po detekci činidlem jako malé oranžové skvrny na chromatogramu. Jednotlivé alkaloidy jsem zjistila pomocí hodnot retardačních faktorů, které byly stanoveny při teplotě 22 °C a relativní vzdušné vlhkosti 60 %.

„Tab. 4 Hodnoty R_F “²⁰

alkaloidy	hR_F
narkotin	83
kryptonin	71
lobelin	67
laudanisin	60
papaverin	57
thebain	54
kodein	30
morfin	13
narcein	1

²⁰ ŠITA, František; CHMELOVÁ-HLAVATÁ, Vlasta; CHMEL, Karel. *Chromatografická analýza drog*. Votice : [s.n.], 1973. Opium, s. 40.

Tab. 5 Přítomnost jednotlivých alkaloidů ve vzorcích

KRAJ	Královéhradecký	Středočeský	Liberecký	Domácí vz.
ALKALOID				
narkotin	X	-	-	X
kryptopin	X	X	-	X
lobelin	X	X	X	-
laudanisin	-	X	-	X
papaverin	X	X	-	X
thebain	X	X	X	X
kodein	X	X	X	X
morfin	X	X	X	X
narcein	X	X	X	X

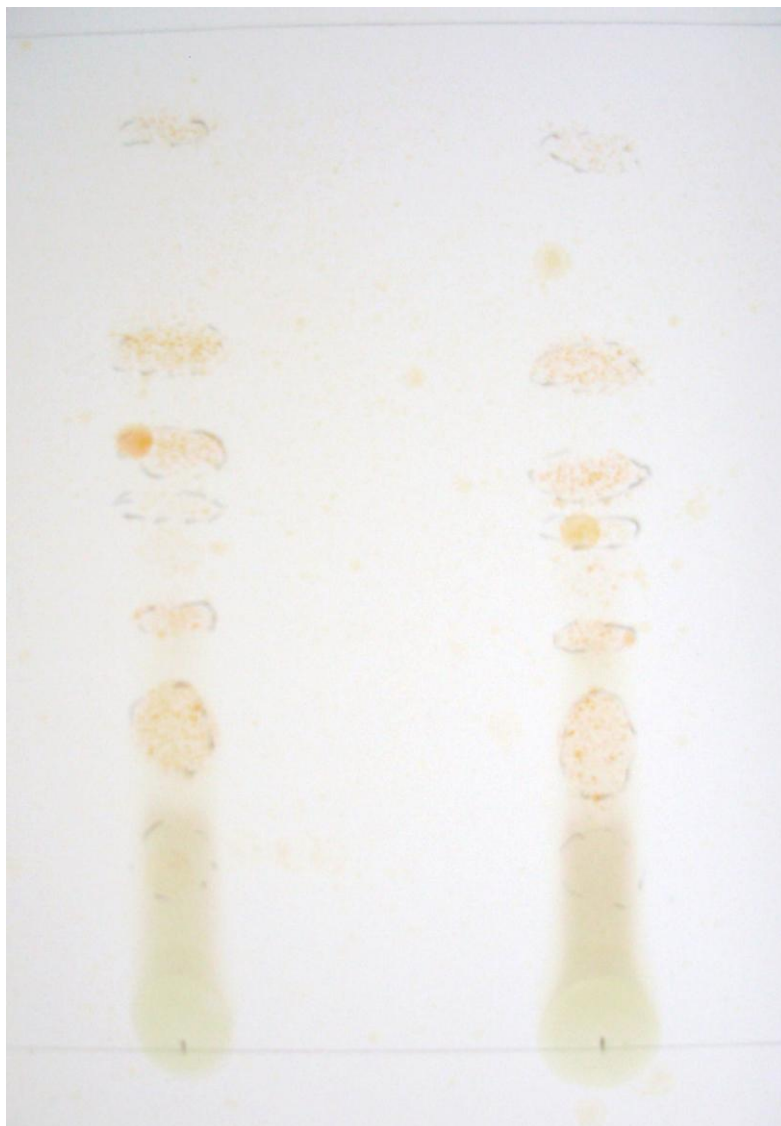
X = přítomnost alkaloidu



Obr. 8 Domáci vzorek

Kraj	Domáci vzorek
Alkaloid	
narkotin	83
kryptopin	70
laudanosin	60
papaverin	56
thebain	54
kodein	32
morfin	13
narcein	1

Tab. 6 Naměřené hodnoty R_F



Obr. 9 Královéhradecký kraj

Kraj	Královéhradecký
Alkaloid	
narkotin	81
kryptopin	69
lobelin	67
papaverin	57
thebain	54
kodein	31
morfin	14
narcein	1

Tab. 7 Naměřené hodnoty R_F



Obr. 10 Liberecký kraj

Kraj	Liberecký
Alkaloid	
lobelin	67
thebain	54
kodein	32
morfin	13
narcein	1

Tab. 8 Naměřené hodnoty R_F



Obr. 11 Středočeský kraj

Kraj	Středočeský
Alkaloid	
kryptopin	71
lobelin	67
laudanosin	62
papaverin	56
thebain	54
kodein	31
morfín	14
narcein	1

Tab. 9 Naměřené hodnoty R_F

6.2.2 Druhá skupina vzorků

Druhá skupina vzorků se od první lišila ve způsobu uchovávání. Seškrábané opium jsem extrahovala v isopropanolu. K dispozici jsem měla tři různé vzorky, a to z kraje Libereckého, Královéhradeckého a Středočeského. Jednotlivé vzorky jsem získala přibližně z 30 makovic.

Příprava vzorků

Nejprve jsem vzorky přelila do kádinek. Poté jsem je jednotlivě zahřívala 30 minut na vodní lázni. Během zahřívání jsem dodržovala teplotu 60 °C. Po zahřívání jsem roztok zfiltrovala a objem upravila na 10 ml. Vzorky měly typický zápach opia, i když méně výraznější než u vzorků první skupiny. Barevná odlišnost byla také mnohem více patrná. Vzorek z Libereckého kraje měl světle žlutý vzhled, zatímco ze Středočeského byl kalný. Třetí vzorek z Královéhradeckého kraje byl nejsvětlejší, což mohlo být způsobeno větším nadbytkem isopropanolu.



Obr. 12 Vzorky druhé skupiny

S=Středočeský, L= Liberecký, KH=Královéhradecký

Vzorky byly podstoupeny k chromatografické analýze na tenké vrstvě.

Vzestupná chromatografie

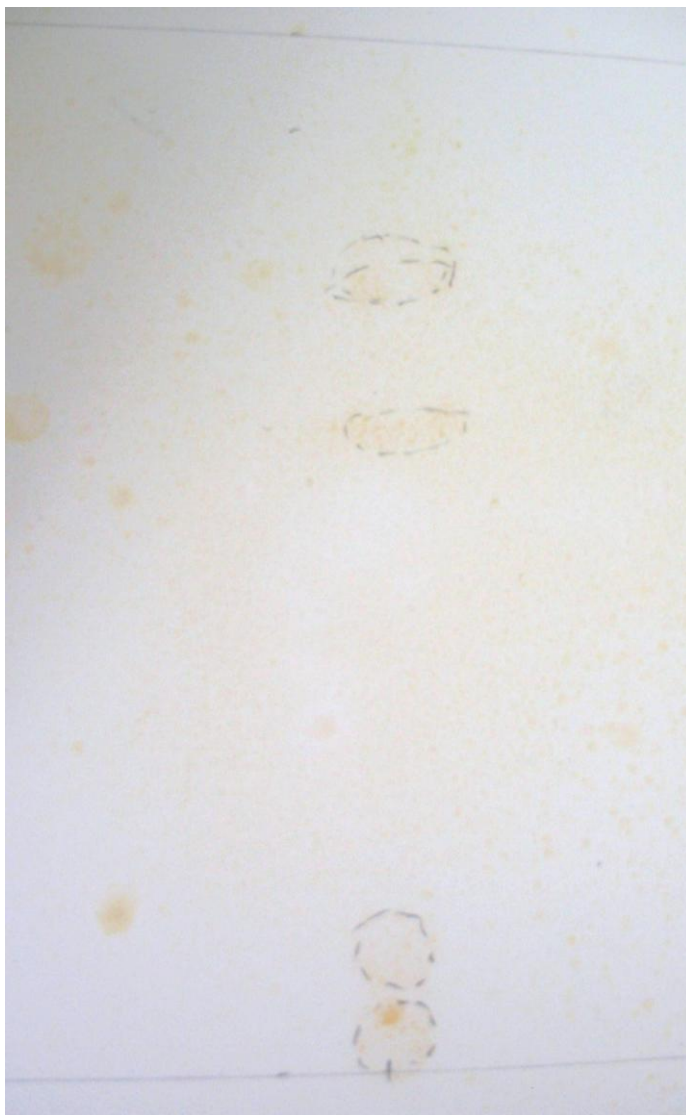
Postup se téměř nelišil od předchozího. Opět jsem použila nasycenou komoru se stejnými poměry rozpouštědel. Na chromatografický papír Silufol UV 254 od firmy Whatman velikosti 20 x 20 cm jsem si 2 cm od dolního okraje vyznačila tužkou start, ve vzdálenosti 10 cm od něj jsem načrtla čelo. Na start jsem mikropipetou nanasla jednotlivé vzorky. Na každém chromatogramu jsem si na startu vyznačila dvě místa a na každé z nich jsem vždy nanasla 4 x 10 µl jednoho vzorku. Celkem jsem tedy měla tři takto připravené chromatogramy, které jsem vyvíjela v chromatografické komoře. Doba vyvíjení činila 40 minut. Po vyjmutí chromatogramů z komory nebyly téměř patrné žádné žluté skvrny. Suché chromatogramy jsem v digestoři postříkala Dragendorffovým činidlem.

Alkaloidy

Tab. 10 Přítomnost jednotlivých alkaloidů ve vzorcích

KRAJ	Královéhradecký	Středočeský	Liberecký
ALKALOID			
narkotin	-	-	X
kryptopin	X	-	-
lobelin	-	-	-
laudanisin	X	-	X
papaverin	-	-	-
thebain	-	X	-
kodein	-	-	-
morfín	X	X	X
narcein	X	X	X

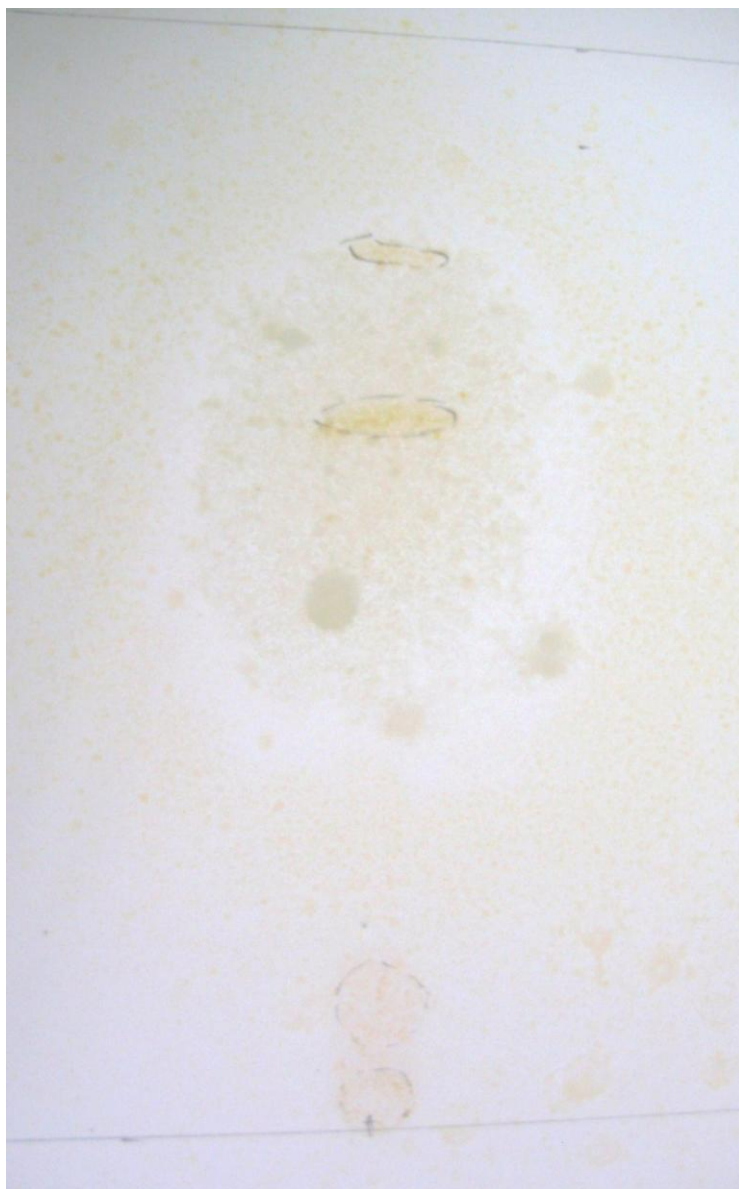
X = přítomnost alkaloidu



Obr. 13 Královéhradecký kraj

Kraj	Královéhradecký
Alkaloid	
kryptopin	73
laudanosin	60
morfin	13
narcein	1

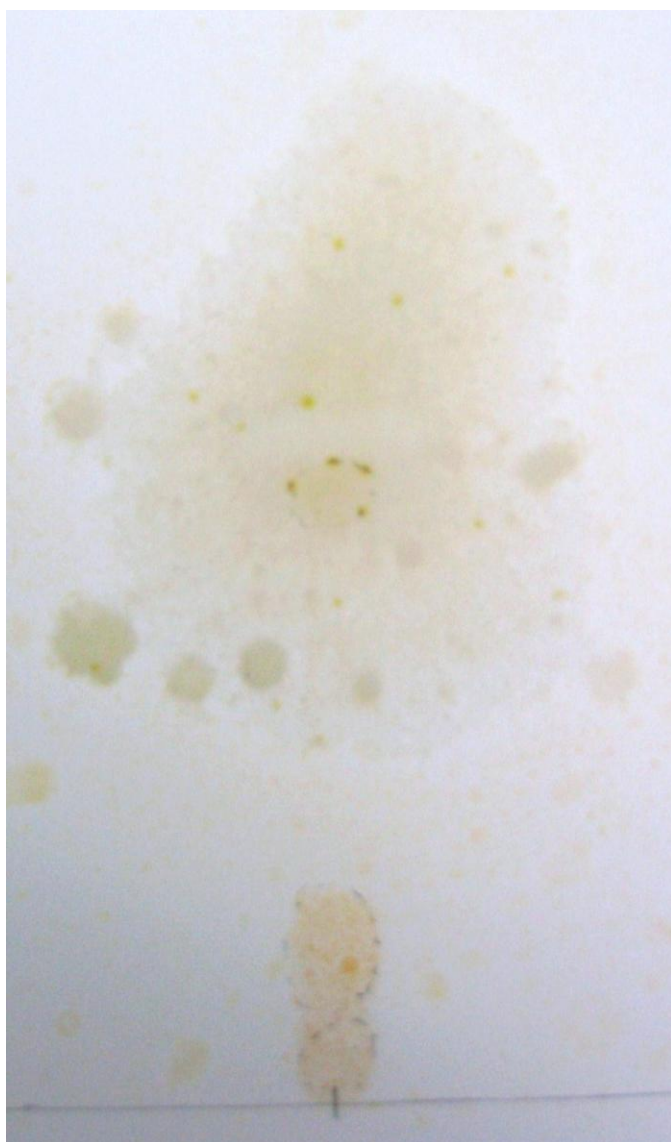
Tab. 11 Naměřené hodnoty R_F



Obr. 14 Liberecký kraj

Kraj	Liberecký
Alkaloid	
narkotin	80
laudanosin	62
morfin	13
narcein	1

Tab. 12 Naměřené hodnoty R_F



Obr. 15 Středočeský kraj

Kraj	Středočeský
Alkaloid	
thebain	54
morfin	13
narcein	1

Tab. 13 Naměřené hodnoty R_F

6.2.3 Třetí vzorek

K dispozici jsem měla ještě další vzorek, který jsem získala od Dr. Šlamborové, vedoucí práce. Makovice byly natrhány u Litomyšle, kraj Pardubický. Půdy nacházející se na místě sběru jsou illimerizované půdy s illimerizovanými půdami oglejenými. Illimerizované půdy neboli luvizemě jsou rozšířené ve středních výškových polohách v nadmořské výšce mezi 250 – 500 m n. m. Půdní reakce je kyselá. Zemědělsky jsou tyto půdy nižší kvality díky jejich občasnému převlhčení. Vhodné plodiny pro pěstování jsou zejména obiloviny, jetel a vojtěška.

Třetí vzorek se od mých vzorků lišil ve způsobu a době uchovávání. Ve skleničce s ethanolem byly naložené po dobu dvou let celé makovice, ne pouze sušené opium jako v předešlých skupinách. Nejprve jsem do kádinky odlila 20 ml vzorku a na vodní lázni jsem odpařovala ethanol do doby, než v kádince zůstalo přibližně 5 ml. Poté jsem vzorek zahustila isopropanolem na 10 ml. Na chromatogramu jsem si na startu vyznačila dvě místa a na každé z nich jsem mikropipetou nanesla 2 x 10 µl. Po vyvíjení jsem suchý chromatogram postříkala detekčním činidlem. Alkaloidy se neprojevíly jako skvrny, což mohlo být způsobené nadbytkem isopropanolu.

O týden později jsem pokus se vzorkem provedla znovu. Tentokrát jsem si zvolila tři různé způsoby přípravy vzorků opia pro detekci.

První vzorek

Do kádinky jsem odlila cca 3 ml přímo ze skleničky s ethanolem. Roztok, který byl bez makovic, jsem pouze přefiltrovala. Po filtraci jsem měla 2,8 ml vzorku, který měl světle žlutou barvu a byl lehce zakalený, převažoval z něj zápach ethanolu.

Druhý vzorek

Další vzorek jsem získala tím, že jsem do kádinky odlila přibližně 15 ml roztoku spolu s naloženými makovicemi. Roztok jsem odpařovala na vodní lázni po dobu 30 minut. Následně jsem roztok přefiltrovala a získala 3,4 ml vzorku, který měl tmavě žlutý vzhled a byl kalný. Zápach připomínal spíše pach opia.

Třetí vzorek

Poslední vzorek byl opět bez makovic. Do kádinky jsem ze skleničky odlila 20 ml a na vodní lázni jsem hodinu odpařovala ethanol, během odpařování jsem kontrolovala teplotu tak, aby nepřesáhla 60 °C. Po hodině odpařování jsem roztok přefiltrovala a získala 5 ml vzorku. Barva byla světle hnědá, převažoval opiový zápach.

Vzorky jsem postoupila chromatografické analýze na tenké vrstvě.

Vzestupná chromatografie

Na jeden chromatogram jsem si tužkou na start vyznačila tři výchozí body pro jednotlivé vzorky, na které jsem mikropipetou nanesla 4 x 10 µl. Chromatogram jsem vložila do komory a nechala vyvíjet. Po 40 minutách jsem chromatogram vyjmula, a když byl suchý, postříkala jsem ho Dragendorffovým činidlem. Opět se neobjevily žádné viditelné známky přítomnosti alkaloidů. Chromatogram jsem do druhého dne uchovávala ve filtračním papíru. Teprve následující den, pravděpodobně díky menší koncentraci vzorků, se alkaloidy projeví jako světlé oranžové skvrny.

Alkaloidy

Tab. 14 Přítomnost jednotlivých alkaloidů ve vzorcích

	První vzorek	Druhý vzorek	Třetí vzorek
thebain	-	X	X
kodein	X	X	X
morfin	X (velmi slabě)	X	X
narcein	X	X	X

Tab. 15 Naměřené hodnoty R_F

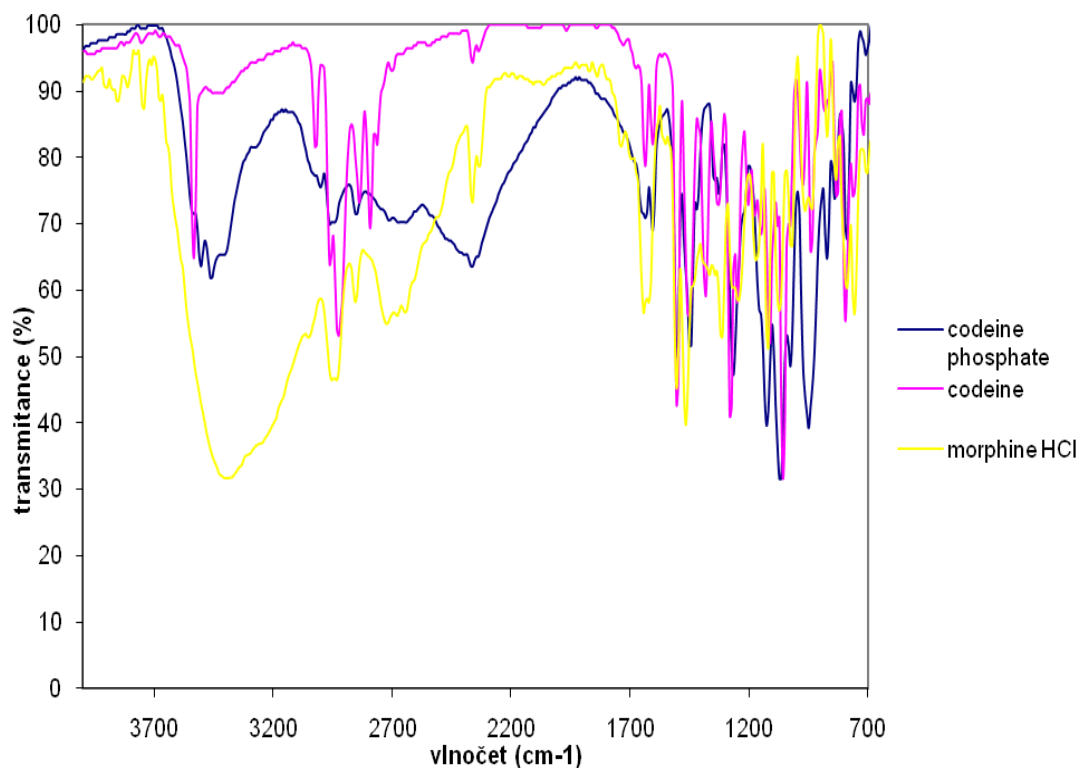
	První vzorek	Druhý vzorek	Třetí vzorek
thebain	-	54	54
kodein	30	30	30
morfin	13	13	13
narcein	1	1	1

7 Infračervená spektrofotometrie alkaloidů opia

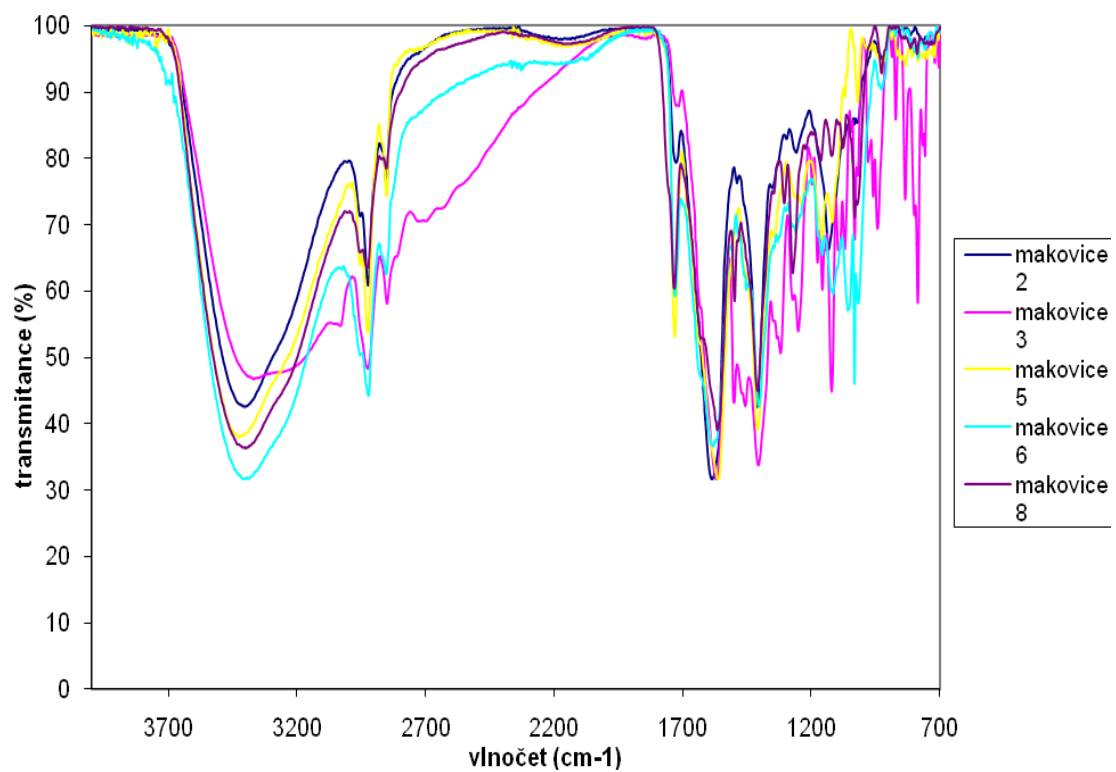
Skvrny po chromatografickém rozdělení na destičce Silufol jsem nejdříve seškrábala. Poté byly vyextrahovány do isopropylalkoholu a po odpaření rozpouštědla bylo reflexní technikou změřeno spektrum. Většina spekter byla velmi slabá, i když se připravil výluh z několika chromatogramů. Výluhy obsahovaly velké množství vody, což znesnadňovalo interpretaci spekter. Ze spekter nebylo možné zjistit, které alkaloidy byly ve výluhu obsaženy, protože spektra byla složena z vibrací všech látek obsažených v matrici, která byla v tomto případě velmi složitá. Navíc se podařilo sehnat pouze tři knihovní spektra předpokládaných obsažených alkaloidů, a to spektra kodeinu, fosforečnanu kodeinu a hydrochloridu morfinu, ani jeden z nich se nepodařilo podle spektra v některém z výluhů identifikovat.

Dále byla změřena spektra extraktů makovic bez předchozího rozdělení, tedy první skupiny vzorků, které jsem připravila ze sušeného opia. Rozdíl ve složení výluhů z makovic z různých lokalit na infračerveném spektru nebylo možné příliš dobře postihnout, protože vzorky obsahovaly kromě hledaných alkaloidů mnoho dalších látek a velké množství vody. I když byly vzorky extraktů ponechány několik dní při pokojové teplotě, vodu se nepodařilo zcela odstranit. Ale i přesto bylo možné zkonstatovat, že IR spektrofotometrií nelze najít mezi extrakty rozdíl.

Měřeno bylo reflexní technikou za pomoci ATR nástavce s krystalem z ZnSe a na přístroji Spektrum One (Perkin-Elmer).

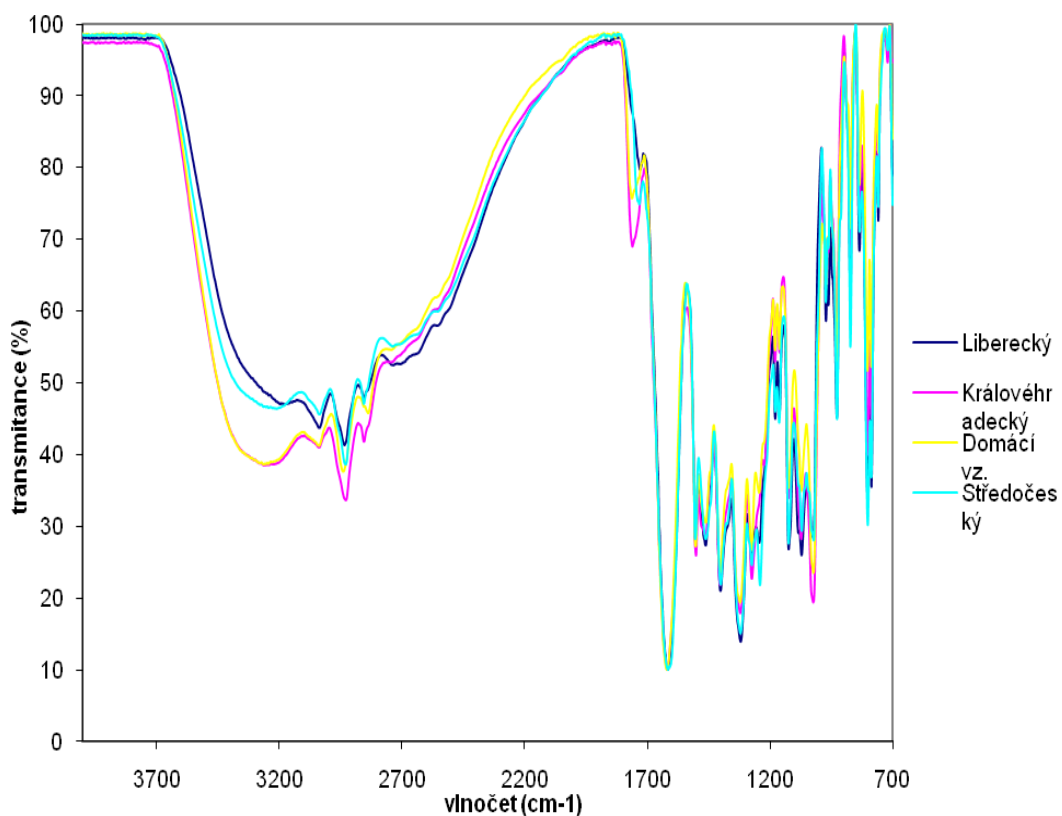


Obr. 16 Spektra z knihovny



Obr. 17 Výluhy z chromatogramů

makovice 2= morfin, 3= kodein, 5= papaverin, 6= laudanosin, 8= narkotin



Obr. 18 Výluhy ze vzorků bez předchozího rozdělení

Na obrázku je možné vidět pouze rozdíly v intenzitě širokého pásu u cca 3270 cm^{-1} (valenční vibrace O-H vazeb), což je asi z největší míry způsobeno různým obsahem vody. Další rozdíly jsou v oblasti karbonylových vazeb – okolo 1750 cm^{-1} . Jedná se o karbonyl esterový a znamená to rozdílné strukturní okolí jednotlivých karbonylových vazeb. Drobné rozdíly jsou i v oblasti skeletálních vibrací, ty ale nelze přiřadit konkrétní vazbě.

IV. Závěr

V práci jsem se zabývala opiovými alkaloidy, a sice jejich účinky, využitím v lékařství a jejich samotnou analýzou pomocí chromatografie na tenké vrstvě a infračervené spektrofotometrie. Cílem bylo porovnat obsah alkaloidů v máku setém ve vybraných lokalitách České republiky, a to v kraji Královéhradeckém, Středočeském a Libereckém. K dispozici jsem měla dvě skupiny vzorků, které se lišily ve způsobu získání. Detekci první skupinu vzorků, které jsem získala tím, že jsem sušené opium zahřívala po dobu 30 minut na vodní lázni s 10 ml 70 % ethanolu a po zfiltrování jsem objem upravila na 3 - 3,5 ml, jsem došla k následujícímu závěru. V kraji Královéhradeckém a Středočeském byly přítomny téměř všechny analyzované alkaloidy, s výjimkou laudanosinu v Královéhradeckém kraji a narkotinu ve Středočeském kraji. Opium získané z kraje Libereckého bylo na alkaloidy mnohem chudší než opium ve vzorcích z krajů předešlých. Ve vzorku chyběly alkaloidy narkotin, kryptopin, laudanosin a papaverin. Možným vysvětlením může být typ půdy, na kterém jsem makovice nasbírala, jelikož pseudogleje s hnědými půdami oglejenými patří díky kyselé půdní reakci k méně úrodným půdám. Dále je možné, že se jednalo o odrůdu PRZEMKO, tedy nízkomorfinovou odrůdu s nižším výnosem semen, nebo o odrůdu GERLACH se středním obsahem morfinu v makovině. Do první skupiny jsem přidala i vzorek z domácí zahrady v obci Kovač, která se nachází v Královéhradeckém kraji. V tomto vzorku byly opět přítomny, až na lobelin, všechny analyzované alkaloidy.

KRAJ	Královéhradecký	Středočeský	Liberecký	Domácí
ALKALOID				vz.
narkotin	X	-	-	X
kryptopin	X	X	-	X
lobelin	X	X	X	-
laudanosin	-	X	-	X
papaverin	X	X	-	X
thebain	X	X	X	X
kodein	X	X	X	X
morfin	X	X	X	X
narcein	X	X	X	X

Druhou skupinu vzorků jsem získala extrakcí opia v isopropanolu. Analýzou vzorků, které jsem připravila zahříváním opia v isopropanolu na vodní lázni po dobu 30 minut, následnou filtrací a upravením objemu na 10 ml, jsem nedošla k tak dobrým výsledkům jako v případě předešlém. Ve všech vzorcích byly přítomny narcein a morfin. V Královéhradeckém kraji byl navíc laudanosin a kryptopin, ve Středočeském kraji thebain a v Libereckém laudanosin a narkotin. Přítomnost menšího množství alkaloidů mohlo být způsobeno uchováváním v isopropanolu, kde pravděpodobně mohlo dojít k destrukci některých alkaloidů.

KRAJ	Královéhradecký	Středočeský	Liberecký
ALKALOID			
narkotin	-	-	X
kryptopin	X	-	-
lobelin	-	-	-
laudanosin	X	-	X
papaverin	-	-	-
thebain	-	X	-
kodein	-	-	-
morfin	X	X	X
narcein	X	X	X

Třetí vzorek, který se lišil od mých vzorků ve způsobu a době uchovávání tím, že celé nezralé makovice byly po dobu dvou let naložené v ethanolu. Když jsem vzorek po odpaření ethanolu zahustila isopropanolem, žádné alkaloidy se na chromatogramu neobjevily, což mohlo mít příčinu v nadbytečném množství isopropanolu. Dále jsem zvolila tři jiné způsoby přípravy vzorků opia pro detekci. Analýzou prvního, který jsem získala pouhou filtrací roztoku s makovicemi, se druhý den po detekci na chromatogramu projevíly světle oranžové skvrny alkaloidů narceinu, morfinu a kodeinu. Detekcí druhého vzorku získaného odpařováním ethanolu na vodní lázni s makovicemi a třetího vzorku, který jsem taktéž získala odpařováním ethanolu na vodní lázni, ale bez makovic, se opět druhý den objevily na chromatogramu alkaloidy narcein, morfin, kodein a thebain.

	První vzorek	Druhý vzorek	Třetí vzorek
thebain	-	X	X
kodein	X	X	X
morfin	X (velmi slabě)	X	X
narcein	X	X	X

Analýza pomocí infračervené spektrofotometrie se ukázala pro další práci se vzorky nevhodná, jelikož jsem nedošla ke zcela jasným výsledkům. V případě výluhů z makovic z různých lokalit nebylo možné na infračerveném spektru postihnout rozdíly ve složení příliš dobře, protože vzorky obsahovaly kromě hledaných alkaloidů mnoho dalších látek a velké množství vody. Výluhy získané po chromatografickém rozdělení na tenké vrstvě opět obsahovaly velké množství vody, což znesnadňovalo interpretaci spekter. Ze spekter nebylo možné zjistit, které alkaloidy jsou ve výluhu obsaženy, protože spektra byla složena z vibrací všech látek obsažených v matrici. Navíc se podařilo sehnat pouze tři knihovní spektra předpokládaných obsažených alkaloidů. Ani jeden z nich se nepodařilo podle spektra v některém z výluhů identifikovat.

Nejlepších výsledků jsem dosáhla analýzou první skupiny vzorků pomocí chromatografie na tenké vrstvě. Alkaloidy se na chromatogramu projeví jako jasné identifikovatelné oranžové skvrny. Hodnoty R_F se daly přesně změřit, ve většině případů se shodovaly s přesnými tabulkovými hodnotami. Domnívám se, že dobrých výsledků bylo dosaženo díky tomu, že vzorky byly připraveny ze sušeného opia, které bylo následně po seškrábání z makovic uchováváno na stinném místě, tudíž nemohlo dojít k rozkladu alkaloidů.

V. Seznam pojmů a zkratk

Agonisté opiodních receptorů = látky se silnou vazbou na μ -receptory, vyvolávají typické účinky opiátů, mají mohutný analgetický účinek

Anodyna = opiodní analgetika

Antagonisté opiodních receptorů = blokují vazbu látek na opiodní receptory, díky tomu se používají jako léky při předávkování

Antitusikum = léky, které slouží k potlačení kašle tím, že tlumí kašlací reflex

Asthma cardiale = srdeční astma, selhání levé komory, dochází k překrvení plic

Bradykardie = zpomalení srdeční frekvence

CYP2D6 = jaterní enzym katalyzující přeměnu kodeinu na morfin

Dechová deprese = obtížné dýchání

Diuréza = zvýšená tvorba moči

Dysforie = stav úzkosti spojený s depresivním prožíváním

Dyspnoe = dušnost, pocit nedostatku dechu

Endogenní opiody = peptidické látky, které si člověk vytváří sám, za fyziologických podmínek slouží k potlačení bolesti

Fisrt pass efekt = „účinek prvního průchodu játry“, dochází ke snížení účinku látky podané p.o.

I.v. = intravenózní aplikace – nitrožilní

Konvulzivní účinky = křeče

Laudanum = alkoholová opiová tinktura

Lingveta = tableta určená pro vkládání pod jazyk

Monoaminoxidasa = enzym, který je zodpovědný za odbourávání molekul přenášejících vzruchy mezi nervovými buňkami

Morfin-3-glukoronid, morfin-6-glukuronid = metabolity, která vzniknou reakcí morfinu s kyselinou glukuronovou v játrech

Nervus oculomotorius = III. hlavový nerv, inervuje čtyři okohybné svaly, zužuje zornici

Obstipace = zácpa

Opiáty = opiové alkaloidy a jejich polosyntetické deriváty

Opioidní receptory = receptory zodpovědné za analgetické působení,
za fyziologických podmínek slouží k vazbě endogenních opioidů

Opioidy = přirozené i syntetické látky, která jsou schopné vázat se na opioidní
receptory nacházející se v centrálním nervovém systému a na periferiích

Opium = lepavá hnědá hmota obsahující alkaloidy, která se získává z nezralých
tobolek máku setého

Ortostatická hypotenze = náhlá pokles krevního tlaku při zaujetí vzpřímené polohy
z leže nebo sedu

P.o.= perorální aplikace – ústy

Parenterální aplikace = způsob, kdy se léčebná látka podává do organismu jinou
cestou než zažívacím traktem, např. injekcemi nebo nitrožilní
infuzí

Psychotomimetické účinky = halucinace, bludy, hypertenze

Retence moči = zadržování moči v močovém měchýři, nemožnost se vymočit

Sublingvální aplikace = aplikace pod jazyk

Supaspinální analgezie = analgézie působící funkčně nad páteřní míchou

Tachykardie = zrychlená srdeční činnost

Vasodilatace = rozšíření cév

VI. Seznam použité literatury a zdrojů

BEČKOVÁ, Ilona, VIŠŇOVSKÝ, Peter. *Farmakologie drogových závislostí*. 1. vyd. Praha : Karolinum, 1999. 112 s. ISBN 80-7184-864-6.

DAVENPORT-HINES, Richard. *Honba za zapomněním : Světové dějiny narkotik 1500-2000*. Praha : BB/art s.r.o., 2004. 503 s. ISBN 80-7341-202-0.

GASPARIČ, Jiří; CHURÁČEK, Jaroslav . *Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin*. Praha : SNTL, 1981. 320 s.

LINCOVÁ, Dagmar, FARGHALI, Hassan. *Základní a aplikovaná farmakologie : Druhé, doplněné a přepracované vydání*. Praha : Galén, 2007. 672 s. ISBN 978-80-7262-373-0.

LÜLLMANN, Heinz, MOHR, Klaus, WEHLING, Martin. *Farmakologie a toxikologie : Překlad 15., zcela přepracovaného vydání*. 2. vyd. Praha : Grada, 2004. 728 s. ISBN 80-247-0836-1.

MILOSCHEVSKY, Dimitrij. *Analgetika-minimum pro praxi*. 1. vyd. Praha : Triton, 1999. 152s. ISBN 80-7254-043-2.

PROKEŠ, Jaroslav. *Základy toxikologie : Obecná toxikologie a ekotoxikologie*. Praha : Galén, 2005. 248 s. ISBN 80-7262-301-X.

STANĚK, Jaroslav. *Alkaloidy*. Praha : Československá akademie věd, 1957. 653 s.

ŠITA, František; CHMELOVÁ-HLAVATÁ, Vlasta; CHMEL, Karel. *Chromatografická analýza drog*. Votice : [s.n.], 1973. Opium, s. 40.

TOMÁŠEK, Milan. *Půdy České republiky*. Praha : Česká geologická služba, 2007. 68 s. ISBN 978-80-7075-688-1.

WAISSER, Karel; PALÁT, Karel. *Bioorganická chemie*. Praha : Karolinum, 2001. 306 s. ISBN 80-246-0382-9.

Internetové zdroje

Agroweb.cz [online]. 2001 [cit. 2010-02-03]. Odrůdy máku a jejich výsledky. Dostupné z WWW: <http://www.agroweb.cz/Odrudy-maku-a-jejich-vysledky__s44x10553.html>.

Biotox.cz [online]. 2000-2009 [cit. 2010-02-03]. Encyklopedie psychotropních rostlin. Dostupné z WWW: <<http://www.biotox.cz/enpsyro/pj3rpas.html>>.

Biotox.cz [online]. 2001-2007 [cit. 2010-03-10]. Chemicals. Dostupné z WWW: <<http://www.biotox.cz/chemicals/alkaloid/kodein.htm>>.

Biotox.cz [online]. 2001-2007 [cit. 2010-03-10]. Chemicals. Dostupné z WWW: <<http://www.biotox.cz/chemicals/alkaloid/papaverin.htm>>.

Český institut pro rozvoj a ochranu díla „VE SVĚTLE PRAVDY“ [online]. 2006 [cit. 2010-03-05]. O lidském mozku. Dostupné z WWW: <<http://ao-institut.cz/texty/Mozek/01-maly-velky-mozek.html>>.

Drogová poradna : Občanské sdružení Sananim [online]. 2002-2010 [cit. 2010-03-05]. Opiáty. Dostupné z WWW: <<http://www.drogovaporadna.cz/rubrika.php?rubrika=58>>.

Drogový informační server [online]. 2006 [cit. 2010-03-05]. Odborníci. Dostupné z WWW: <http://www.drogy.net/portal/pro-odborniky/cesky-odborny-tisk/opioidni-analgetika_2006_09_04.html>.

Geršl, Vladimír. Analgetika [online] [prezentace]. [cit. 2010-02-03]. Dostupné z WWW: <www.lfhk.cuni.cz/farmakol/predn/.../Gersl_AnalgetikaCZ2006_2007web.ppt>.

ChemSpider : Building community for chemists [databáze online]. 2009 [cit. 2010-02-12]. Search. Dostupné z WWW: <<http://www.chemspider.com/Search.aspx>>.

ChemWeb by Luky [online]. 2005-2009 [cit. 2010-03-31]. Články. Dostupné z WWW: <<http://www.chemweb.estranky.cz/clanky/ksicht---serial>>.

Krystal Help : sdružení pro podporu prevence a práce s drogově závislými [online]. 2008 [cit. 2010-04-01]. Ilegální drogy. Dostupné z WWW: <<http://www.krystalhelp.cz/index.php?pg=ilegalni&ppg=opi>>.

LookChem : Look for Chemicals [databáze online]. 2008 [cit. 2010-02-12]. LookChem. Dostupné z WWW: <<http://www.lookchem.com/>>.

Mák setý In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, , 28.3.2010 [cit. 2010-04-16]. Dostupné z WWW: <http://cs.wikipedia.org/wiki/M%C3%A1k_set%C3%BD>.

MIŠTOVÁ, Tereza. *Alkaloidy obsažené v rostlinách čeledi Papaveraceae Juss.* Zlín, 2009. 40 s. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Dostupné z WWW: <https://www.stag.utb.cz/apps/stag/dipfile/index.php?download_this_unauthorized=12519>.

Morfin In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, , 8.3.2010 [cit. 2010-03-10]. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Morfin>>.

PubChem [databáze online]. 2004 [cit. 2010-02-12]. Compound. Dostupné z WWW: <<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>>.

Purchase Poppy Seeds for Sale [online]. 2010 [cit. 2010-03-05]. Learn the Steps of Poppy Growing. Dostupné z WWW: <http://www.purchasepoppyseedssale.com/poppy_growing>.

The Why Files [online]. 2005 [cit. 2010-03-05]. Brain on Drugs. Dostupné z WWW: <http://whyfiles.org/225drug_receptors/index.php?g=2.txt>.

Thebain In *Wikipedia : the free encyclopedia* [online]. St. Petersburg (Florida) : Wikipedia Foundation, , 17.11.2009 [cit. 2010-03-10]. Dostupné z WWW: <<http://de.wikipedia.org/wiki/Thebain>>.

Ústav farmakologie [online] [prezentace]. 2009 [cit. 2010-01-13]. Dostupný z WWW: <old.lf3.cuni.cz/ustavy/farmakologie/Opioidy.ppt>.